Efeitos da restrição sono no desempenho físico, responsividade à insulina e função mitocondrial hepática em camundongos

Palavras-Chave: SHIFTWORK-1, OBESIDADE-2, DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL-3

Autores(as):

AMANDA ABREU AVELINO, FCA – UNICAMP

LARISSA MOREIRA DIAS (coorientadora), FCA - UNICAMP

Prof. Dr. JOSÉ RODRIGO PAULI (orientador), FCA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A obesidade é uma doença crônica definida pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal que representa risco à saúde. Nas últimas décadas, a obesidade tornou-se um dos mais graves problemas de saúde pública enfrentados no mundo, afetando cerca de 890 milhões de adultos em 2022[1], devido a sua etiologia multifatorial que inclui fatores comportamentais, sociais, econômicos, culturais e genéticos e o risco elevado de desenvolvimento de outras doenças como diabete *mellitus,* dislipidemia, hipertensão e Doença Hepática Gordurosa Associada à Disfunção Metabólica (DHGDM)[2].

O trabalho em turnos, ou *shiftwork*, é uma condição de trabalho que envolve a execução de tarefas do trabalho em diferentes períodos, ao longo do dia e da noite, com intuito de aumentar a produtividade. O *shiftwork* (trabalho em turno invertido/noturno) tem se tornado cada vez mais frequente em diversos países, especialmente os desenvolvidos. No entanto, trabalhadores em turno apresentam maior risco de desenvolver sobrepeso e obesidade em comparação com trabalhadores diurnos[3], tornando a cronodisrupção um fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas.

Portanto, compreendendo a complexidade da obesidade e dos distúrbios metabólicos e a importância da sua investigação para a promoção da saúde pública mundial, o presente estudo teve como objetivo investigar os impactos da restrição do sono no ganho de peso, sensibilidade à insulina corporal e função mitocondrial hepática, através de um modelo experimental de *Shiftwork* em camundongos.

METODOLOGIA:

Foram utilizados camundongos machos C57BL/6J com 8 semanas de vida vindos do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da criação de animais de laboratório (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animal (CEUA – 6414-1/2024), do Instituto de Ciências Biológicas, da UNICAMP – Campinas-SP. Os animais permaneceram em grupos de 4 por gaiolas, com temperatura (22 ± 2 °C) controlada, distribuídos nos seguintes grupos experimentais: Controle (CTL) (n=7), alimentado com dieta padrão; *Shiftwork* (SW) (n=9), alimentado com dieta padrão e submetido ao protocolo de restrição do sono. O modelo de restrição do sono utilizado foi o método de plataforma múltipla, em que os camundongos foram alojados em tanques de água (49cm x 34cm x 16cm) contendo 13 plataformas (3 cm de diâmetro) cada de segunda-feira à sexta-feira das 07:00 h as 19:00 h. Por esse método, os animais conseguiram executar locomoção e movimentação, de uma plataforma para outra sendo possível manter a alimentação com dieta padrão e ingestão hídrica *ad libitum*. Assim, após 8 semanas de *Shiftwork,* foi realizada a eutanásia e coleta dos tecidos para análise.

Os resultados foram expressos em médias ± desvio padrão médio e para realizar a comparação entre os dois grupos foi realizado o teste *t* para amostras independentes. O nível de relevância foi estabelecido em p<0,05. Para as análises estatísticas e elaboração dos gráficos foi utilizado o software Graphpad Prism v8.0.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para análise de desempenho, foi realizado o teste de Hand Grip para análise de força. As análises pré e pós para cada grupo estudado revelaram aumento de desempenho para os dois grupos CTL e SW (Figura A e B). Além disso, os dados indicaram que o grupo SW apresentou menor desempenho se comparado ao grupo CTL ao final do experimento (Figura 1C).

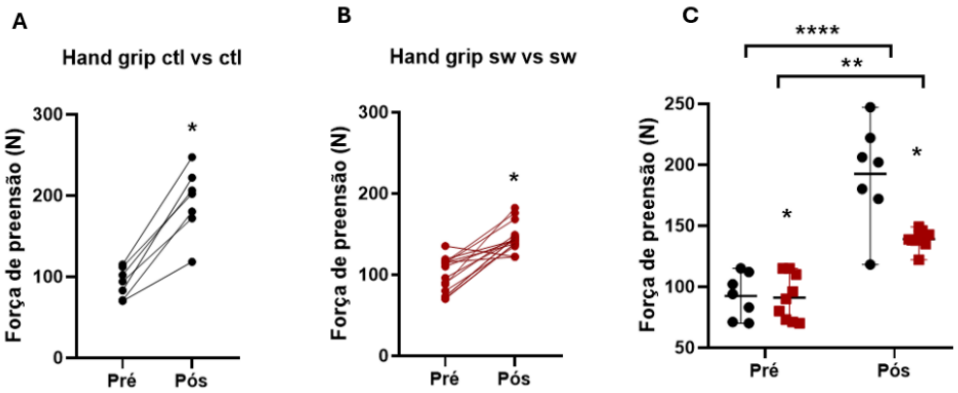

Figura 1. *Efeitos da restrição do sono sobre o desempenho físico de camundongos. A, Hand grip pré e pós intervenção grupo CTL (n=7). B, Hand grip pré e pós protocolo de shiftwork grupo SW (n=7). C, Hand grip pré e pós período experimental (CTL, n=7. SW, n=9). *, p<0,05. **, p<0,01. ****, p<0,0001.*

Os dados à cerca da pesagem corporal, revelaram que o grupo SW apresentou menor peso comparado ao grupo CTL (Figura 2A), assim como, no delta peso (Figura 2B). Quanto a ingestão alimentar, verifica-se que essa foi maior nos camundongos do grupo SW em relação aos camundongos do grupo CTL (Figura 2C), o mesmo aconteceu para o consumo de Kcal total entre o grupo SW e CTL (Figura 2D).

Ademais, o Teste de Tolerância à Insulina revelou curva glicêmica maior para os animais do grupo SW em relação aos controles (Figura 3A). Na mesma direção, os resultados de área sob a curva (AUC) mostrou ser maior no grupo de animais SW do que os animais do grupo CTL (Figura 3B). Quanto a taxa constante de decaimento da glicose (kITT), não houve diferença estatística entre os grupos estudados (Figura 3C). Em relação aos valores de glicemia de jejum e de glicemia pós-prandial não houve diferença significativa entre os grupos experimentais (Figura 3D-E).

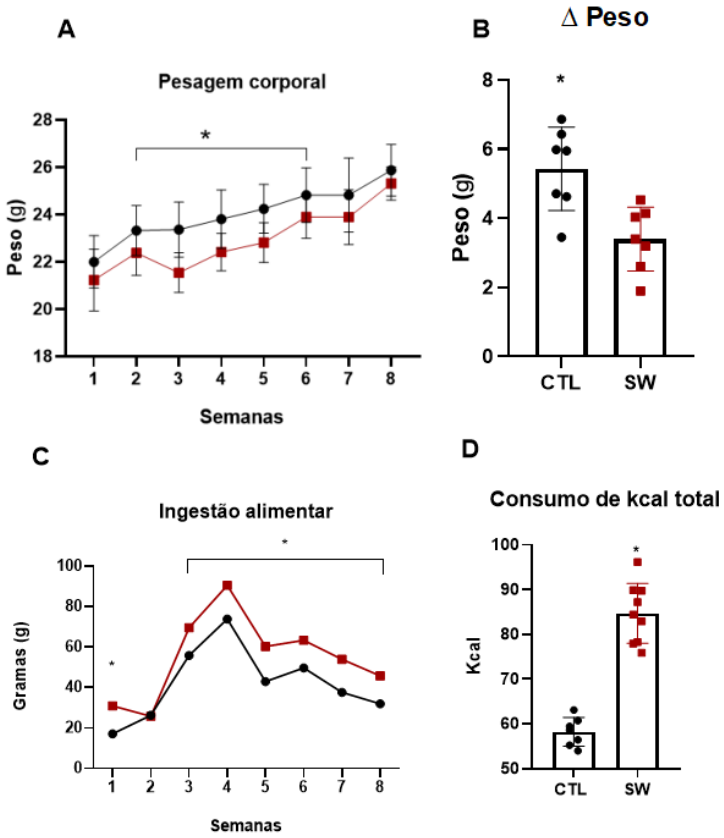

Figura 2. *Efeitos da restrição do sono sobre o peso corporal e ingestão alimentar. A, pesagem corporal (n=8). B, Delta peso (n=7). C, Ingestão alimentar (n=8). D, Consumo total de Kcal por grupo (CTL, n=7. SW, n=9). *, p<0,05.*

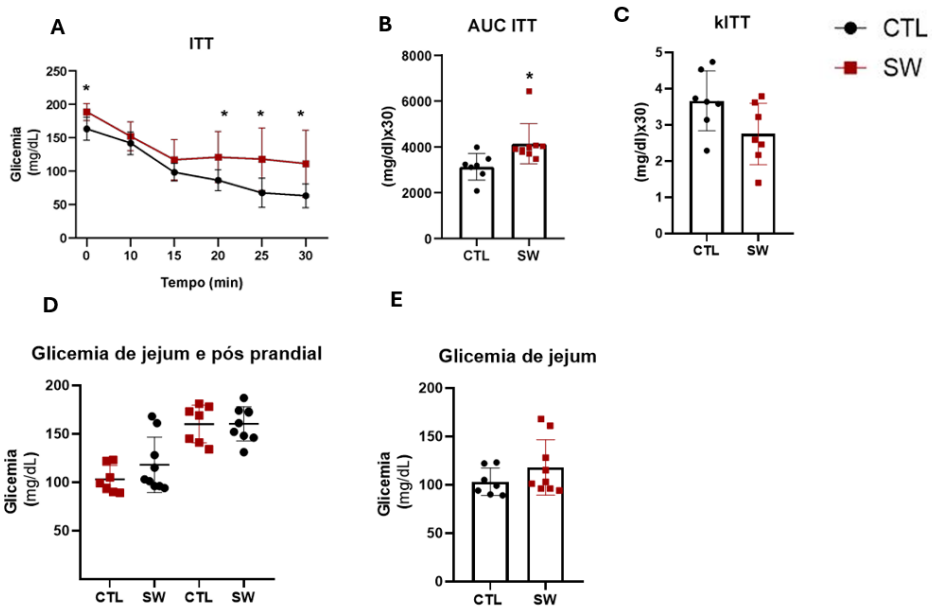

***Figura** 3. Efeitos da restrição do sono sobre a homeostase glicêmica de camundongos. A, Teste de Tolerância à Insulina (ITT) (n=6). B, Área sobre a curva (AUC) do Teste de Tolerância à Insulina (n=7). C, Taxa Constante de Decaimento da Glicose (kITT) (n=7). D, Glicemia de jejum e Pós-Prandial (n=7). E, Glicemia de Jejum (CTL, n=7. SW, n=9). *, p<0,05.*

A partir dos resultados encontrados para análise da função mitocondrial no fígado, verifica-se que os camundongos submetidos ao protocolo de restrição do sono (SW) apresentaram respiração basal (*Routine*) e fosforilação oxidativa *(OXPHOS)* menor do que o grupo CTL. Quanto à produção de ATP *(ATP-linked respiration)*, verificou-se diminuição na capacidade de gerar ATP no grupo SW quando comparado ao CTL. O fluxo de oxigênio não acoplado à produção de ATP *(Leak respiration)* foi menor no grupo SW do que o CTL. Por fim, a capacidade respiratória mitocondrial máxima foi menor no grupo SW e não foram encontradas diferenças estatísticas na capacidade respiratória mitocondrial de reserva (Figura 4A-F).

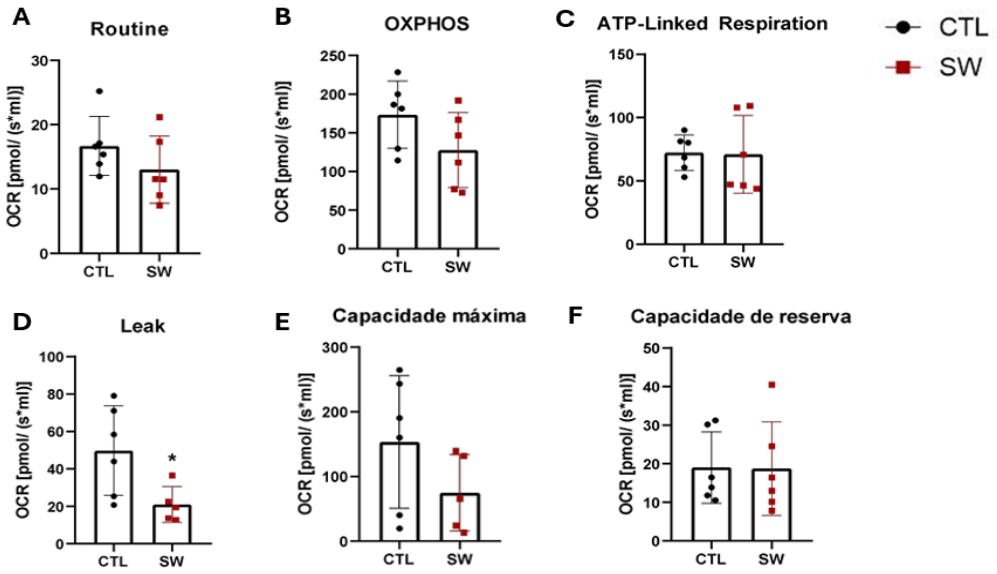

***Figura 4**. A restrição do sono induzido pelo modelo experimental de Shiftwork prejudicou a função mitocondrial hepática em camundongos. A, Routine (Respiração basal) (n=6). B, OXPHOS (Fosforilação Oxidativa) (n=6). C, ATP-Linked Respiration (Produção de ATP) (n=6). D, Leak (Fluxo de oxigênio não acoplado a produção de ATP) (n=6). E, Capacidade Máxima (n=6). F, Capacidade de Reserva (n=6). *, p<0,05.*

DISCUSSÃO

Os dados encontrados revelaram que a restrição do sono induzida nos camundongos provocou distúrbios importantes na sensibilidade à insulina e na função mitocondrial hepática. Isso demonstra, que mais estudos devem ser conduzidos com o intuito de investigar as alterações decorrentes da privação do sono (modelo de *Shiftwork*) na saúde metabólica. Em nosso estudo, vimos que o desempenho no teste de Hand Grip aumentou significativamente antes e após o período experimental em ambos os grupos estudados (CTL e SW). Apesar do grupo SW demonstrar aumento na força de preensão quando comparado ao período pré intervenção, o grupo CTL demonstrou desempenho físico significativamente maior em relação ao SW. Estudo realizado por Hui Ouyang e colaboradores, demonstrou que camundongos submetidos a privação do sono por 96h perderam massa muscular e apresentaram força de preensão significativamente menor em comparação com o Controle[4].

Os dados referentes a pesagem corporal indicaram que o protocolo de restrição do sono não foi capaz de gerar ganho de peso em camundongos alimentados com dieta padrão, provavelmente isto se deve ao aumento do gasto calórico decorrente do método utilizado em nosso estudo, em que os animais possuem locomoção livre entre as plataformas e passam parte do tempo pendurados seja para realizar a alimentação ou evitar contato com a água. Quanto a ingestão alimentar, o consumo de calorias totais foi significativamente maior no grupo SW do que no CTL, apesar de não refletir em ganho de peso. Estes mesmos resultados foram descritos no estudo de Koban e colaboradores, em que animais privados do sono através do método de plataforma múltipla obtiveram

peso corporal significativamente menores ao longo do experimento em comparação aos controles, apesar da ingestão alimentar ser significativamente maior em relação aos controles[5].

Verifica-se que a resposta glicêmica frente ao desafio com insulina foi diminuída nos animais do grupo SW em relação aos animais do grupo CTL. Isso é um indicativo de resistência à insulina nos animais SW. Por outro lado, não há diferença na glicemia de jejum e glicemia pós-prandial. O valor de glicemia de jejum normal ou pós-prandial pode ser um reflexo da maior produção de insulina pelas células beta pancreática dos animais SW, compensando a resistência à insulina. Portanto, futuros estudos devem incluir a análise da função da célula beta em modelos de privação do sono.

Quanto a análise da função mitocondrial no tecido hepático, verificou-se que a restrição do sono induzida pelo modelo experimental de *Shiftwork* foi capaz de causar disfunções mitocondriais, como a diminuição da eficiência bioenergética, indicada pela redução da *OXPHOS* (fosforilação oxidativa), que avalia a função da cadeia respiratória e a eficiência entre a oxidação e a fosforilação, indicando diminuição da eficiência da cadeia transportadora de elétrons na produção de ATP. Também demonstraram disfunções associadas a alterações estruturais ou redução no número de mitocôndrias devido à redução no *Leak respiration* que atua no complexo mitocondrial V, essencial para a síntese de ATP. Estes achados também foram encontrados por estudos que avaliaram a relação entre sono e função mitocondrial, identificando padrões diferenciais na atividade da enzima *OXPHOS* e alterações morfológicas na organela[6-7].

CONCLUSÕES:

Conclui-se que, a restrição do sono realizada através do modelo experimental de *Shiftwork* aumentou o consumo alimentar dos camundongos do grupo SW em comparação ao CTL sem refletir em ganho de peso, no entanto, tal condição induziu prejuízo de desempenho no teste de força e maior resistência corporal ao hormônio insulina. Além disso, foram identificados prejuízos a função mitocondrial no tecido hepático com a redução da *OXPHOS* que indica diminuição da eficiência bioenergética e disfunções associadas a alterações morfológicas como no complexo V, essencial para a síntese de ATP.

BIBLIOGRAFIA

[1] ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Obesity and overweight**, 2025.

[2]ENDALIFER ML, et al. **Epidemiology, Predisposing Factors, Biomarkers, and Prevention Mechanism of Obesity: A Systematic Review.** Journal of Obesity, 2020.

[3]LORENZO L DI, et al. **Effect of shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-tolerant men working in a Southern Italian industry.** International Journal of Obesity, 2003.

[4]Ouyang H, et al. **Insomnia impairs muscle function via regulating protein degradation and muscle clock.** Cornell University, 2023.

[5]KOBAN M, et al. **Sleep Deprivation of Rats: The Hyperphagic Response Is Real.** Sleep, 2008.

[6]LINDSAY M, et al. **Mitochondria's role in sleep: Novel insights from sleep deprivation and restriction studies.** The World Journal of Biological Psychiatry , 2021.

[7]SCRIMA R, et al. **Clock-genes and mitochondrial respiratory activity: evidence of a reciprocal interplay**. Biochimica et Biophysica Acta, 2016.