



# ANÁLISE DOS PARÂMETROS LINEARES DA MARCHA DE RATOS TREINADOS E ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLÍDICA

Diogo Rodrigues Jimenes<sup>1</sup>, Nilton Rodrigues Teixeira Júnior<sup>2</sup>, Sara Suelen Carvalho Oliveira<sup>3</sup> Wilson Rinaldi<sup>4</sup>, Carmem Patrícia Barbosa<sup>5</sup> Pedro Paulo Deprá<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico de pós-graduação (Doutorado) em Educação Física, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Bolsista CAPES. diogojimenes@gmail.com

<sup>2</sup>Acadêmico de pós-graduação (Mestrado) em Fisiologia, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Bolsista CAPES. nilton98rodrigues@gmail.com

<sup>3</sup>Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Estadual de Maringá- UEM. ssuelen930@gmail.com

<sup>4</sup> Docente no Curso de Educação Física, Universidade Estadual de Maringá- UEM. wrinaldi@uem.br

<sup>5</sup> Docente de Anatomia Humana, Universidade Estadual de Maringá- UEM. carmemmec@gmail.com

<sup>6</sup> Docente no Curso de Educação Física, Universidade Estadual de Maringá- UEM. ppdepra@uem.br

## RESUMO

A marcha é um comportamento fundamental dos animais terrestres, sejam bípedes ou quadrúpedes. Por isso, sua análise permite aos pesquisadores obter *insights* valiosos sobre condições neurológicas e musculoesqueléticas. Neste contexto, tem sido crescente a utilização de roedores para se analisar a marcha, assim como para se analisar fatores que podem influenciá-la como, por exemplo, obesidade, lesões e envelhecimento. Complementarmente, tem sido comum em modelos animais a indução de obesidade a partir de dietas hiperlipídica (HFD) e o uso de treinamentos físicos por meio de exercícios diversos. Considerando que se faz necessário melhor compreender o comportamento motor deste animal, o objetivo deste estudo foi avaliar dados de cinemática linear da marcha de ratos *Wistar* recebendo dieta HFD e ração padrão submetidos a um protocolo de treinamento HIIT. Para isto, foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* alimentados ou não com dieta HFD, os quais foram treinados ou permaneceram sedentários. Após o período de treinamento foram realizadas gravações dos ciclos de marcha de todos os grupos. Os dados lineares foram calculados a partir dos eventos identificados no ciclo da marcha em cada quadro da filmagem (fase de apoio e balanço). Os dados mostraram que as oito semanas de HIIT utilizadas no presente estudo foram capazes de reduzir parâmetros como comprimento de passada, tempo de apoio, comprimento de passada, de maneira independente da dieta ofertada.

**PALAVRAS-CHAVE:** Análise cinemática; Exercício em esteira; HFD; Locomoção; Ratos; Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT).

## 1. INTRODUÇÃO

A pesquisa de análise cinemática de marcha em ratos é uma área importante de estudo na Biologia e nas Neurociências. Isto porque a marcha é um comportamento fundamental em animais terrestres, sejam eles bípedes ou quadrúpedes. Ao investigar a marcha em ratos, os pesquisadores podem obter *insights* valiosos sobre o funcionamento do sistema nervoso central e periférico, bem como sobre as condições neurológicas e musculoesqueléticas que a possibilitaram.

A análise da marcha envolve a quantificação objetiva e detalhada dos movimentos dos membros superiores e inferiores, bem como de todo o corpo durante seu ciclo completo. Para tanto, pode-se utilizar técnicas avançadas de rastreamento de movimento, onde marcadores reflexivos são colocados em postos-chaves do corpo do animal, como as articulações e os ossos. Esses marcadores refletem a luz infravermelha emitida por câmeras de alta velocidade, permitindo que os pesquisadores capturem e analisem os movimentos tridimensionais com alta precisão (DIOGO et al., 2017).

Adicionalmente, o Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (*High Intensity Interval Training*; HIIT) tem sido bastante praticado para melhorar o condicionamento físico e a composição corporal. De uma maneira geral, o HIIT é estruturado com execução de exercícios de alta intensidade intercalados com exercício de baixa ou moderada



intensidade. Este método de treinamento tem sido muito utilizado em pesquisas científicas que utilizam modelos animais (COSTA et al., 2021).

Pesquisas recentes em modelos de roedores têm analisado parâmetros biomecânicos da marcha e ajudado a compreender inclusive lesões musculares e nervosas (KURZ et al., 2007; OSUNA-CARRASCO, 2016; DIOGO et al., 2017; DIENES et al., 2019). Alguns artigos avaliaram características da marcha em treinamento de baixa intensidade em ratos (SILVEIRA et al., 2016) porém, na maioria destes estudos, foram obtidos poucos dados de variáveis lineares. Além disso, não foram encontradas pesquisas no que tange às variáveis comportamentais da marcha 3D em ratos submetidos à dieta HFD, associada ou não ao HIIT.

A dieta HFD tem sido utilizada em modelos experimentais com roedores com a intenção de induzir sobrepeso e obesidade. Tal dieta tem sido apontada como hábil em modificar parâmetros cardiometabólicos, bioquímicos e suas modificações em função do treinamento físico. Devido a isto, faz-se necessário compreender melhor o comportamento motor deste animal mediante tais variáveis. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar dados de cinemática linear da marcha de ratos *Wistar* alimentados com dieta HFD e ração padrão submetidos a um protocolo de treinamento HIIT.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Animais e Delineamento experimental

Foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*) de 9 meses de idade, solicitados ante ao biotério central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) aos 21 dias, quando foram desmamados e encaminhados ao biotério setorial do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) da UEM. No biotério setorial permaneceram por 5 dias para adaptação, sendo mantidos sob temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e com água e ração para roedores (Nuvilab®) *ad libitum*. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de ética no uso de animais da UEM (CEUA/UEM), sob protocolo nº 5230050620.

Aos 5 meses de idade, os animais foram randomizados e subdivididos em 4 grupos ( $n=07$ ): T-SD (treinado e alimentado com ração padrão), S-SD (sedentário e alimentado com ração padrão), T-HFD (treinado e alimentado com HFD) e S-HFD (sedentário alimentado com HFD).

Para a indução da obesidade, a dieta hiperlipídica (High Fat Diet; HFD) foi ofertada *ad libitum* pelo período de 16 semanas (8 semanas iniciais e durante mais 8 semanas de treinamento HIIT) para os grupos S-HFD e T-HFD. Esta dieta contém, além de nutrientes essenciais, alto teor de gordura (35% de banha de porco).

### 2.2 Protocolo de treinamento físico em esteira

Os animais pertencentes aos grupos T-SD e T-HFD foram treinados em esteira para roedores (Panlab, Harvard Apparatus®, Cornellà- Barcelona – Espanha) com controle eletrônico de velocidade. O treinamento físico foi realizado no período da noite (após as 18h), três vezes por semana, durante 60 dias (24 sessões no total). A intensidade do treinamento (Velocidade pico –  $V_{pico}$ ) foi previamente confirmada por meio de um teste de esforço máximo.

O treinamento HIIT foi precedido de um aquecimento de 5 minutos a 40% da  $V_{pico}$ . Posteriormente, os ratos correram 6 ciclos compostos de 4 minutos entre 85-90% da  $V_{pico}$ , seguidos de 3 minutos entre 50-60% da  $V_{pico}$  (COSTA et al., 2021).



## 2.3 Análise cinemática tridimensional da marcha

A análise cinemática tridimensional da marcha foi realizada por meio de um modelo biomecânico antropométrico definido a partir do posicionamento de pontos anatômicos de referência no corpo do animal usando marcadores refletivos em acidentes ósseos previamente determinados (DIENES et al., 2019).

Para a coleta de dados da cinemática 3D foram posicionadas 4 câmeras digitais (Exilim EX-10 Casio®) a aproximadamente 0,7m da esteira. Os ratos foram estimulados a caminhar pela esteira, regulada a uma velocidade constante de 0,24 m/s.

Duas câmeras foram colocadas com foco para o lado esquerdo do rato e outras 2 câmeras voltadas para o lado direito, na direção do movimento, permitindo assim o registro simultâneo dos dois hemicorpos. Os dados foram coletados a uma taxa de amostragem de 120Hz e a câmera foi regulada com um *shutter* de 1/1000. As gravações ocorreram após o período do treinamento HIIT, tendo sido obtidos uma média de 8 ciclos/animal.

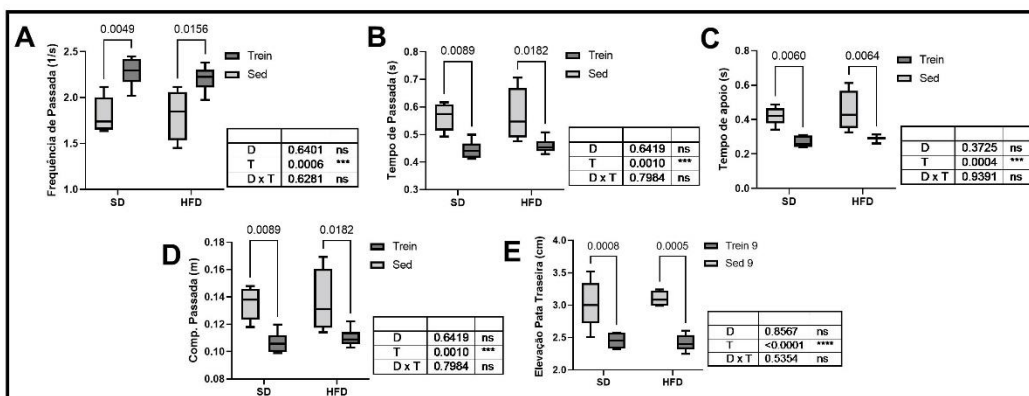
Os dados lineares foram calculados a partir dos eventos identificados no ciclo da marcha do rato em cada quadro da filmagem (fase de apoio e balanço), através da sincronização das 4 câmeras. Para a obtenção dos dados, foi utilizado o software Dvideow® (FIGUEROA; LEITE; BARROS, 2003). De posse das coordenadas e do quantitativo de quadros, os dados foram calculados em ambiente Matlab®.

## 2.3 Análise estatística

Após a confirmação da normalidade dos dados pelo teste *Shapiro Wilk*, foi utilizado o teste *Mixed effect analisys* para, além da comparação entre os grupos, possibilitar a comparação dos efeitos treinamento e dieta. Foi utilizado o pós-teste de *Sidak* através do programa estatístico *GraphPad Prism 9®* e o nível de significância adotado foi  $p \leq 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, os dados mostraram que somente a prática do HIIT foi capaz de exercer efeitos significativos nas variáveis avaliadas. Quando comparados a seus respectivos sedentários, independentemente da dieta ofertada, os grupos T-SD e T-HFD apresentaram aumento significativo da frequência de passada ( $p=0.0006$ ; Figura 1A), com consequente redução do tempo de passada ( $p=0.0010$ ; Figura 1B), tempo de apoio ( $p=0.0004$ ) (Figura 1C), comprimento da passada ( $p=0.0010$ ; Figura 1D) e redução da altura da pata traseira em relação ao solo ( $p=0.0001$ ; Figura 1E).



**Figura 1:** Gráfico da média±desvio padrão mostrando dados referentes à cinemática linear, sendo: Frequência da passada (1/s; **A**), Tempo de passada (s; **B**), Tempo de apoio (s; **C**), Comprimento da passada (m; **D**) e Elevação da pata traseira (cm; **E**). *Mixed-effects analisys* com pós teste de *Sidaki*,  $p < 0.05$ .



A utilização de esteira tem excelente aplicabilidade para a análise da marcha em roedores e seu uso pode fornecer dados consistentes e quantificáveis com precisão e acurácia, de modo facilmente reproduzível (HERBIN; GASC; RENOUS, 2004). Todavia, poucas pesquisas avaliam os parâmetros de cinemática linear da marcha de ratos submetidos à prática regular de exercícios físicos. Ossuna-Carrasco et al. (2016), ao avaliarem o efeito do treinamento de 4 semanas sobre a locomoção dos membros posteriores de ratos espinalizados, identificaram melhora em parâmetros angulares do joelho, tornozelo e quadril. Ademais, diferentemente dos nossos resultados, Silveira et al. (2019) observaram aumento no comprimento de passada em ratos submetidos ao protocolo de treinamento de baixa intensidade durante 12 semanas. Em nosso estudo, foi utilizado o método HIIT onde os animais correram em maiores velocidades durante determinados períodos de tempo. Assim, acreditamos que métodos diferentes de treinamento possam influenciar no comportamento destas variáveis lineares aqui descritas.

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que a prática de 8 semanas de treinamento HIIT foi o principal fator na mudança de comportamentos das variáveis lineares nos grupos treinados, independente da dieta ofertada.

#### REFERÊNCIAS

- COSTA, L.R. et al. High-Intensity Interval Training Does Not Change Vaspin and Omentin and Does Not Reduce Visceral Adipose Tissue in Obese Rats. **Front. Physiol.** 12:564862, 2021. doi: 10.3389/fphys.2021.56486
- DIENES, J.A. et al. Analysis and Modeling of Rat Gait Biomechanical Deficits in Response to Volumetric Muscle Loss Injury. *Front Bioeng Biotechnol.* v. 19, n. 7, 2019. doi: 10.3389/fbioe.2019.00146.
- DIOGO, C. C. et al. Dynamic feet distance: A new functional assessment during treadmill locomotion in normal and thoracic spinal cord injured rats. **Behavioural brain research.** v. 335, p. 132–135, 2017. doi: 10.1016/j.bbr.2017.08.016
- FIGUEROA, P. J.; LEITE, N. J.; BARROS, R. M.; A flexible software for tracking of markers used in human motion analysis. **Computer Methods and Programs in Biomedicine.** v. 72, p. 155-165, 2003. doi: 10.1016/s0169-2607(02)00122-0
- HERBIN, M., GASC, J. P., & RENOUS, S. Symmetrical and asymmetrical gaits in the mouse: patterns to increase velocity. *Journal of comparative physiology.* **Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology.** v. 190, n. 11, p. 895–906, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00359-004-0545-0>
- KURZ, M.J. et al. A chronic mouse model of Parkinson's disease has a reduced gait pattern certainty. **Neurosci Lett,** v. 429, n. 1, p. 39–42, 2007.
- OSUNA-CARRASCO, L.P. et al.. Quantitative analysis of hindlimbs locomotion kinematics in spinalized rats treated with Tamoxifen plus treadmill exercise. **Neuroscience.** v. 1, n. 333, p. 151-61, 2016.
- SILVEIRA, E. M. S. et al. Age-related changes and effects of regular low-intensity exercise on gait, balance, and oxidative biomarkers in the spinal cord of Wistar rats. **Brazilian journal of medical and biological research.** v. 52, p. 7, 2019.