

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS  
*LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS*  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Natália Stinghen Tonet

IMPACTOS DA PERTURBAÇÃO PARCIAL CRÔNICA DO SONO EM  
PARÂMETROS BIOMÉTRICOS E METABÓLICOS DE RATOS E RATAS.

Florianópolis

2022

**Natália Stingen Tonet**

**IMPACTOS DA PERTURBAÇÃO PARCIAL CRÔNICA DO SONO EM  
PARÂMETROS BIOMÉTRICOS E METABÓLICOS DE RATOS E RATAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Ciências Biológicas, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Professor Dr. Alex Rafacho

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Tonet, Natalia Stinghen

Impactos da perturbação parcial crônica do sono em  
parâmetros biométricos e metabólicos de ratos e ratas /  
Natalia Stinghen Tonet ; orientador, Alex Rafacho, 2022.  
34 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,  
2022.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. I. Rafacho, Alex. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Ciências Biológicas. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Alex, pela oportunidade de fazer parte de sua equipe e por me permitir vivenciar tamanha experiência, por todo ensinamento, suporte e conselhos.

Ao meu colega IC, Danilo, pela parceria e amizade. Pelas inúmeras madrugadas e finais de semana trabalhando juntos e dando risada. Por tornar tudo mais leve e ser fundamental para a realização desse projeto.

A Flávia, por se fazer disponível, por segurar minha mão e não medir esforços para me ensinar todos os procedimentos necessários. Adicionalmente a toda equipe do LIDoC, por me receber tão bem e fraternalmente.

A minha família, pelo amor, pela vida e condições que me oferecem. Especialmente a minha mãe, por manter todos de pé e se doar além do possível para que tenhamos possibilidade de focar em nossos estudos e trabalhos.

Aos meus amigos, principalmente as “Feiticeiras”, por se fazerem presentes nos melhores e piores momentos de toda minha caminhada acadêmica. A Amanda, por ser a melhor amiga que eu poderia pedir. Por ser exemplo de força e resiliência.

Aos animais que cederam suas vidas para a realização desta pesquisa.

## RESUMO

Processo que ocorre em praticamente todas as espécies de animais, o sono é um dos eventos mais enigmáticos da vida. Cada vez mais frequente em nossa sociedade, seja por fatores socioambientais ou fisiopatológicos, a diminuição das horas dormidas predispõe a doenças cardiovasculares, metabólicas e até mesmo ao câncer. A privação de sono também pode predispor ao ganho de peso e aumento de apetite, que por sua vez são fatores de risco para o diabetes mellitus tipo 2. Assim, nos propusemos a avaliar os impactos de uma privação (aqui denominado de perturbação) crônica do sono sobre alguns parâmetros biométricos e metabólicos em ratos e ratas adultos. Para tal, animais adultos de ambos os sexos foram submetidos a um protocolo de perturbação do sono duas vezes ao dia, com duração de 2 h em cada ciclo, imediatamente após e antes do apagar das luzes (4 h/dia), por 4 semanas consecutivas com suspensão do protocolo aos finais de semana. Os respectivos grupos controle permaneceram intocados no mesmo ambiente do grupo experimental. Parâmetros biométricos como peso corpóreo e ingestão alimentar foram analisados ao longo do protocolo. A tolerância à glicose foi avaliada no período final do protocolo enquanto análises bioquímicas e pesagem de órgãos se deu após eutanásia. A perturbação do sono resultou em redução do ganho de peso corpóreo em ambos os sexos. Esta alteração se deu em paralelo a alteração no padrão de ingestão alimentar em ambos os sexos, com oscilações entre tendência de redução da ingestão alimentar durante os dias de perturbação de sono com aumento compensatório nos períodos de descanso (finais de semana). A tolerância à glicose foi menor no grupo de machos, enquanto as fêmeas se mostraram resilientes para a mesma perturbação. Os dados post-mortem revelaram redução da massa adiposa em ambos os sexos sem qualquer alteração nos valores de triacilglicerol plasmáticos. Concluímos que a perturbação parcial e crônica do sono em ratos reduz o ganho de peso, a adiposidade visceral e, interfere no comportamento ingestivo independentemente do sexo. Essas alterações ocorrem em paralelo a menor tolerância à glicose nos machos. Este estudo alerta para os cuidados com a quantidade e qualidade do sono e seus impactos sobre a saúde metabólica.

**Palavras-chave:** Diabetes. Metabolismo. Obesidade. Privação de sono. Tolerância à glicose.

## ABSTRACT

A process that occurs in almost all species of animals, sleep is one of life's most enigmatic events. Increasingly frequent in our society, whether due to socio-environmental or pathophysiological factors, the reduction in sleeping hours predisposes to cardiovascular and metabolic diseases and even cancer. Sleep deprivation can also predispose to weight gain and increased appetite, risk factors for type 2 diabetes mellitus. Thus, we proposed to evaluate the impacts of a chronic sleep deprivation (herein called perturbation) on some biometric and metabolic parameters in adult male and female rats. For this purpose, adult animals of both sexes were submitted to a sleep perturbation protocol twice a day, lasting 2 h in each cycle, immediately after and before lights out (4 h/day), for 4 consecutive weeks with suspension of the protocol on weekends. The respective control groups remained untouched in the same environment as the experimental group. Biometric parameters such as body weight and food intake were analyzed throughout the protocol. Glucose tolerance was assessed in the final period of the protocol while biochemical analyzes and organ weighing were performed after euthanasia. Sleep perturbation resulted in reduced body weight gain in both sexes. This change occurred in parallel with the change in the pattern of food intake in both sexes, with oscillations between the tendency of reduction in food intake during the days of sleep perturbation with a compensatory increase in rest periods (weekends). Glucose tolerance was lower in the male group, while females were resilient to the same disturbance. Post-mortem data revealed a reduction in fat mass in both sexes without any change in plasma triacylglycerol values. We conclude that partial and chronic sleep perturbation in rats reduces weight gain, visceral adiposity and interferes with ingestive behavior regardless of sex. These changes occur in parallel with lower glucose tolerance in males. This study alerts to the quantity and quality of sleep and its impacts on metabolic health.

**Key-words:** Diabetes. Metabolism. Obesity. Sleep deprivation. Glucose Tolerance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Modelo de plataformas múltiplas.....	16
<b>Figura 2.</b> Delineamento experimental.....	17
<b>Figura 3.</b> Peso corpóreo.....	19
<b>Figura 4.</b> Variação do peso corpóreo.....	20
<b>Figura 5.</b> Comportamento ingestivo.....	21
<b>Figura 6.</b> AUC (g/100g.26dias <sup>-1</sup> ).....	21
<b>Figura 7.</b> Glicemia (mg/dL).....	22
<b>Figura 8.</b> AUC (mg/dL.120min).....	22
<b>Figura 9.</b> Triacilglicerídeos plasmático (mg/dL).....	23
<b>Figura 10.</b> Soma das gorduras (g/100g p.c.).....	24
<b>Figura 11.</b> Massa das gorduras (g/100g p.c.).....	25
<b>Figura 12.</b> Massa relativa de órgãos (g/100g p.c.).....	26
<b>Figura 13.</b> Massa relativa de órgãos (mg/100g p.c.).....	27

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA**

MCTL- Macho Controle

MPS- Macho Perturbação de Sono

FCTL- Fêmea Controle

FPS- Fêmea Perturbação de Sono



## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>10</b>
1.1. Objetivos.....	14
<b>2. Metodologia.....</b>	<b>15</b>
<b>3. Resultados .....</b>	<b>19</b>
<b>4. Discussão .....</b>	<b>28</b>
<b>5. Conclusão.....</b>	<b>32</b>
<b>Referências.....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O sono é um dos fenômenos mais comuns e enigmáticos da vida. Sabe-se que uma noite de sono bem dormida oferece inúmeros benefícios ao cérebro, reforça o aprendizado e a memória, contribui para o refinamento de nossas emoções e previne doenças favorecendo a manutenção do sistema imune, assim como a regulação metabólica do corpo, do apetite e peso corporal (Walker, 2017). Ocorrendo em praticamente todas as espécies animais, é entendido como uma condição fisiológica que acontece natural e periodicamente, caracterizado por uma mudança no estado de consciência e diminuição da sensibilidade à estímulos externos. O que difere o período de sono de um estado de perda patológica de consciência é sua capacidade de reversão ao estado de sensibilidade e reação aos estímulos (Gomes, 2010). A periodicidade do sono é definida por regulações circadianas e homeostáticas ritmadas, nos mamíferos, em aproximadamente 24 horas (Mignot, 2008).

Podemos separar o sono por duas fases distintas: o REM (Movimento Rápido dos Olhos) e NREM (Movimento Não Rápido dos Olhos), podendo o segundo ainda ser dividido em 1, 2 e 3. A 3ª fase do NREM é também nomeada de “sono de ondas lentas” (Mignot, 2008; Gomes, 2010). Durante este período, há uma diminuição da utilização de glicose cerebral, assim como uma menor atividade dos nervos simpáticos, inibição da liberação de cortisol e alteração de liberação de hormônios reguladores, entre eles leptina e grelina. Em indivíduos saudáveis, observa-se uma variação na tolerância à glicose a níveis mínimos durante este período da noite, associado a uma menor sensibilidade periférica à insulina decorrente da ação noturna do hormônio do crescimento (GH) (Knutson et al., 2007; Spiegel et al., 2009). Esse evento é entendido como um ajuste fisiológico que permite a manutenção de glicose ao sistema nervoso central. Já o sono REM, é caracterizado por uma maior utilização cerebral, associado aos movimentos oculares, produção de sonhos e contrações musculares e cardiorrespiratórias irregulares. Nesta fase, a inibição de neurônios motores espinhais causa supressão do tônus muscular (Carskadon; Dement, 2005).

Em humanos, que apresentam padrão monofásico ou bifásico de sono, o período de sono recomendado pela OMS a adultos é de aproximadamente 8 horas diárias e, apesar dessa necessidade variar de acordo com fatores fisiológicos e socioambientais, sua qualidade depende basicamente das variáveis como a duração, a continuidade e a

eficiência do sono (Buysee, 2014). Para outros animais, contudo, o regime de sono se dá de forma diferente. Para roedores, por exemplo, que apresentam sono polifásico, a duração do sono durante um dia pode alcançar 15 das 24 horas. A organização das fases REM e NREM também acontece de forma distinta. Enquanto os seres humanos apresentam ciclos que variam entre 4 a 6 de sono NREM e REM, durante o período de sono, os roedores apresentam uma fragmentação destes ciclos sendo estes de menor duração durante as 24 h do dia (Deboer, 2007; Thoth; Bhargava, 2013).

A diminuição do período de sono durante as noites tem sido um evento cada vez mais frequente na nossa sociedade. Independentemente da quantidade de sono necessária ser influenciada por diversas variáveis fisiológicas e socioambientais (Cappuccio et al., 2010), estudos comprovam uma diminuição progressiva nas horas totais de sono ao longo das últimas décadas. Fica claro que a privação ou a fragmentação do sono, aqui por nós denominada de perturbação de sono, tem um impacto negativo sobre aspectos cognitivos e metabólicos, como demonstrado por inúmeros estudos centrados neste tema (McCoy; Strecker, 2011; Colativo et al., 2013). Estudo realizado por Nakamura et al. (2011) buscou avaliar a relação entre a duração do sono e demais hábitos de vida, como alcoolismo, fumo e prática de atividade física à síndrome metabólica. Para isso examinou 4356 trabalhadores da saúde, entre homens e mulheres, e estabeleceu 4 parâmetros diagnósticos para síndrome metabólica, incluindo pressão alta, dislipidemia, intolerância à glicose e sobrepeso. Os resultados indicaram que uma menor duração de sono está positivamente relacionada à presença destes parâmetros nos indivíduos, independente dos demais hábitos de vida.

Os trabalhos experimentais com animais tem papel importante na compreensão da fisiologia e consequências da privação do sono. Um estudo avaliou 29 modelos para privação de sono em ratos e camundongos quanto a sua viabilidade, validade e valor translacional (Revel et al., 2009). Os modelos consideravam a exposição a fatores ambientais, exposição à dor, utilização de fármacos, entre outros, trazendo suas principais vantagens e dificuldades. Uma questão importante a ser considerada na escolha do protocolo para a privação do sono em animais é a contaminação causada pelo estresse, o que pode influenciar a análise e interpretação dos dados. Idealmente, parece que a privação do sono sem a ‘contaminação’ pelo estresse é aquela quando efetivamente se priva da fase REM, uma privação parcial do sono. O protocolo mais utilizado para este fim é conhecido como ‘vaso de flores’ (do inglês: flowerpot), por

apresentar fácil aplicabilidade, baixo custo e boa reprodutibilidade. Este método consiste na utilização de um tanque de água contendo pequenas plataformas acima da superfície da água, que podem ser múltiplas ou simples, para acomodar animais em conjunto ou isolados. O protocolo do vaso de flores permite ao animal ter sono NREM, porém a perda de tônus muscular causado pela fase REM faz com que o animal toque na água e desperte (Colativo et al., 2013).

A privação rígida do sono, como demonstrada por um estudo onde ocorreu privação prolongada do sono em ratos machos adultos (18h/dia durante 21 dias), resultou em alterações características as observadas na síndrome metabólica, como o aumento da glicemia e a resistência à insulina (Venancio e Sucheck, 2015). Outro estudo com o uso de plataformas múltiplas para produzir restrição de sono REM (21h/dia por 15 dias) seguido por uma dieta hiperlipídica por 6 semanas em ratos demonstrou a potencialização dos efeitos diabetogênicos causados pela dieta nos animais (Oliveira et al. 2015). Outro estudo recente com cães machos revelou que a privação total de sono durante uma noite foi tão prejudicial à sensibilidade à insulina quanto uma dieta hipercalórica por nove meses, enfatizando a importância do sono para a homeostase glicêmica (Brouwer et al. 2020).

Ponto importante a ser ressaltado é que os estudos que promovem privação de sono em modelos animais envolvem privações de maneira muito intensa, como nos exemplos supracitados, sendo muitas horas por dia ou períodos de privação muito extensos. Também desconsideram os efeitos a longo prazo, sem apostar na cronicidade da privação. Vale destacar também que o contexto atual da pandemia do COVID-19 alterou drasticamente os hábitos diários de muitos indivíduos, incluindo a qualidade e a quantidade do sono. Por exemplo, 16% dos idosos avaliados num estudo recente reportaram dormir menos durante a pandemia, enquanto 27% reportaram justamente o contrário. Porém, segundo alega o autor, mesmo que haja um aumento da quantidade de sono, não há uma garantia de sua qualidade, devido ao grande estresse psicológico do momento (Emerson, 2020).

Assim, nos propusemos a realizar uma privação moderada de sono em ratos e ratas adultos. Ainda que não sejam furtados de realizar o sono REM nas horas em que estarão em suas gaiolas, estaremos ocasionando uma interrupção do ciclo natural do sono dos animais na fase clara (lembrando que roedores possuem sono do tipo

polifásico e contínuo ao longo das duas fases de luz). Nosso projeto trás um protocolo original, que busca se diferenciar dos demais no que se refere a intervenção moderada, porém mais cronicada, como se buscasse mimetizar indivíduos que vão dormir mais tarde e despertam mais cedo durante a rotina semanal. Nossa hipótese é de que a perturbação do sono resulte em distúrbios metabólicos, como aumento de apetite, aumento da adiposidade e do peso corporal, intolerância a glicose, dislipidemia, entre outros.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os impactos da perturbação parcial crônica do sono sobre desfechos metabólicos em ratos e ratas adultos.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar o ganho de massa corpórea e o comportamento ingestivo;
- Determinar a tolerância à glicose;
- Determinar parâmetros metabólicos relacionados à homeostase glicêmica, como a concentração de glicose sanguínea e triacilglicerol plasmático;
- Determinar a adiposidade visceral (gorduras perigonadal, omental e retroperitoneal);
- Determinar a massa de órgãos metabólicos (pâncreas, coração, baço e glândulas adrenais);

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

**Animais:** foram utilizados 40 ratos Wistar, machos e fêmeas adultos, provenientes do Biotério Central da UFSC, localizado no Câmpus Trindade, Florianópolis, SC, divididos em 2 lotes. Os animais foram mantidos no Biotério setorial de ratos do LIDoC/CFS/CCB em gaiolas coletivas e em ambiente com temperatura controlada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) em ciclo de iluminação claro-escuro (luzes acessas entre 06:00 – 18:00) com livre acesso à comida e água e foram aclimatados por um período de 3 semanas. Todos os protocolos e procedimentos experimentais relativos ao projeto foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSC (protocolo nº. 9662240920).

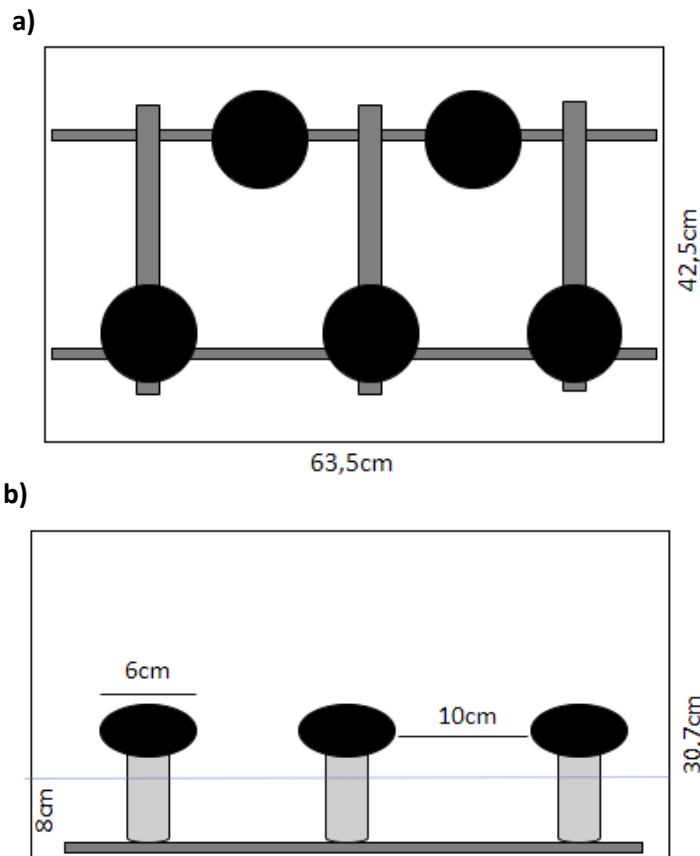
**Tamanho amostral:** o número de animais para cada grupo experimental foi o mínimo indispensável para produzir o resultado conclusivo. Para o cálculo amostral, consideramos o erro alpha (erro do tipo I) de 0,05 e erro beta (erro tipo II) de 0,10 e com base nos valores obtidos pelo software GPower (versão 3.1), obtivemos o número de 10 animais por grupo, haja vista a quantidade de variáveis a serem analisadas com diferentes medidas de tendência central e desvio padrão (SD).

### **Grupos experimentais:**

**Grupo Controle (CTL)** – o mesmo número de machos (MCTL) e fêmeas (FCTL) foram alocados em gaiolas para ratos (5 por gaiola) e permaneceram intocados no mesmo ambiente que os animais expostos à perturbação do sono e em mesmas condições de privação temporária de água e ração.

**Grupo de Perturbação do Sono (PS)** – o mesmo número de animais machos (MPS) e fêmeas (FPS) foram submetidos ao método de plataformas múltiplas, adaptado de Zhang *et al.* (2018). O aparato foi montado utilizando uma caixa plástica contendo 5 plataformas de plástico fixas a uma base de metal, permitindo a remoção das mesmas para limpeza ao término de cada exposição. As medidas da caixa podem ser vistas na Figura 1 a seguir. A água foi mantida 1 cm abaixo da superfície das plataformas e a uma temperatura de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  durante todo o período de exposição. As plataformas continham 6 cm de diâmetro equidistantes a 10 cm entre si, o que permitia que os animais trocassem de plataformas uns com os outros. Os animais (5 animais por caixa, ou seja, todas as plataformas eram ocupadas) foram alocados nessas caixas pelo período de 2 h no período equivalente ao início da fase de descanso dos roedores (entre 06:00 e

08:00 h) e 2 h no fim da fase de repouso (entre 16:00 e 18:00 h), totalizando 4 h de perturbação de sono paradoxal diariamente sem qualquer alteração do ciclo de luz em relação ao grupo controle. Os animais foram gentilmente secados com toalha pelos manipuladores antes de serem reconduzidos às gaiolas tradicionais.

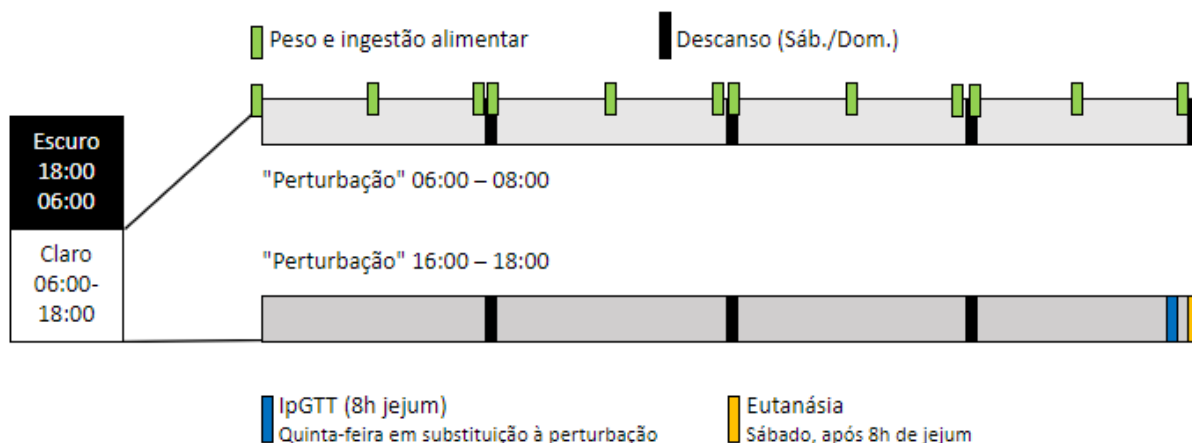


**Figura 1.** Modelo de plataformas múltiplas. (1a) vista superior; (1b) vista frontal. Adaptado de Zhang et al. (2018).

**Condicionamento:** todos os animais dos grupos PS passaram por condicionamento prévio, onde foram expostos ao aparato por 10 min diários, durante 3 dias, na semana que antecedeu o início do protocolo.

**Desenho experimental:** o protocolo de perturbação do sono foi realizado durante cinco dias consecutivos (de segundas-feiras a sextas-feiras), com períodos de descanso pleno durante dois dias (sábados e domingos). Durante o período de descanso pleno do sono e enquanto não estiveram expostos ao aparato, os animais ficaram alojados em gaiolas domésticas de ratos. A duração do experimento foi de 26 dias (n=10). O desenho experimental com as variáveis e abordagens experimentais é mostrado na Figura 2 a seguir.





**Figura 2:** Delineamento experimental. Fonte: autora.

Os animais foram avaliados quanto ao peso corpóreo e ingestão alimentar 3 vezes por semana e submetidos ao teste de tolerância à glicose no final do quarto ciclo. No dia seguinte ao último dia de perturbação (final do quarto ciclo) os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e tecidos.

**Peso corpóreo:** foi realizada determinação do peso corpóreo 3 vezes por semana iniciando no dia anterior ao de início do experimento até o momento da eutanásia em balança eletrônica digital (TECNAL, Campinas, SP, Brazil).

**Ingestão alimentar:** a ingestão alimentar foi verificada 3 vezes por semana juntamente com a aferição da massa corpórea até o momento da eutanásia como descrito anteriormente. Foi realizada pela pesagem da ração remanescente (não ingerida) descontada do total daquela depositada no dia anterior. A diferença representa a quantidade ingerida por gaiola diariamente. A quantidade média de ração ingerida por animal foi obtida através do seguinte cálculo  $[(\text{total de ração ingerida}/\text{número de animais na gaiola})/\text{peso individual de cada animal}]*100$ . Os resultados são expressos em gramas de ração ingeridos por 100 g de peso corpóreo e posteriormente normalizados a partir dos valores basais.

**Teste de Tolerância à Glicose intraperitoneal (ipGTT):** realizado no dia 25 em animais jejuados (8 h) e acordados. A determinação da glicemia no tempo 0 foi realizada por meio do sistema de fitas (monitor digital) "Accu-Check Performa" (ROCHE, Brasil) a partir de gota de sangue obtida por punção da veia caudal. Imediatamente, foi administrada solução de glicose 50% (2 g/kg de peso corpóreo, via intraperitoneal) e foi coletada uma nova gota de sangue da veia caudal aos 30, 60 e 120

min para determinação das concentrações de glicose sanguínea como descrito anteriormente. A área abaixo da curva foi calculada pelo sistema trapezoidal a partir de valores normalizados pela glicemia basal (Rafacho et al., 2008).

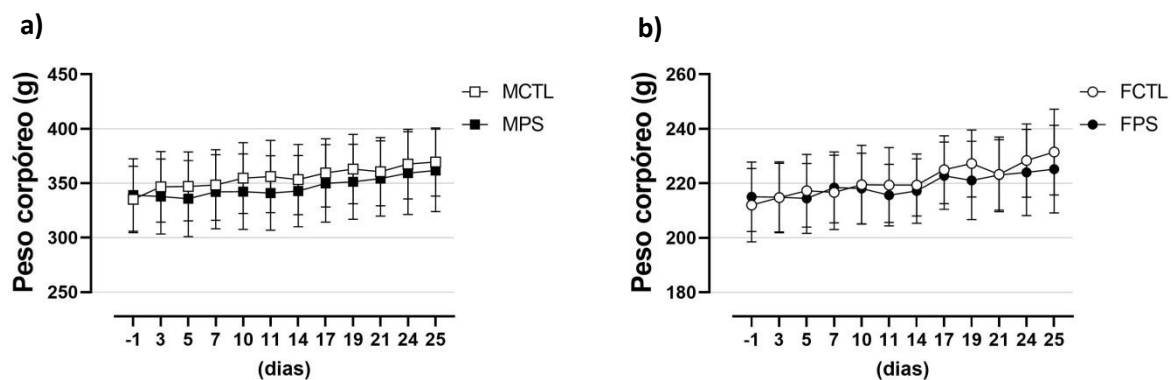
**Eutanásia:** a eutanásia dos animais ocorreu por exposição a anestésico inalatório seguida de decapitação em guilhotina para obtenção do sangue troncal em tubos de vidro previamente tratados com solução salina e de EDTA-NaF (Glistab, Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil) e depois centrifugado a 1.600 rpm por 10 minutos (centrífuga de ângulo fixo modelo ML4000) em temperatura ambiente. As alíquotas de plasma foram armazenadas a -20° C até o momento das dosagens de triacilglicerol, de acordo com instruções dos fabricantes e publicações prévias (Rafacho et al., 2008; Rafacho et al., 2009; Rafacho et al., 2010; Rafacho et al., 2011).

**Massa absoluta e relativa de órgãos metabólicos:** após coleta de sangue os órgãos de interesse (gordura perigonadal, gordura retroperitoneal, gordura omental, pâncreas, coração, baço e glândulas adrenais) foram cuidadosamente removidos e pesados em balança eletrônica analítica digital (TECNAL, Campinas, SP, Brazil).

**Análise estatística:** As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 9.0.0 (GraphPad Inc., La Jolla, CA, Estados Unidos). A simetria dos dados foi confirmada por testes de normalidade, sendo eles Anderson-Darling, Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e D'Agostino e Pearson. Foi considerado simétrico se aprovado por ao menos 2 dos testes. Após avaliação da homoscedasticidade pelo teste de 'F' foi aplicado o Teste *t* de 'Student' não pareado e considerado efeito significativo quando alcançado o valor de  $p \leq 0,05$ . Nas análises longitudinais foi realizada comparação em cada 'endpoint' da abcissa, comparando os grupos entre si. Análises não-paramétricas foram aplicadas nos casos de confirmação de assimetria e/ou heterocedasticidade e neste caso o teste utilizado foi o Mann-Whitney. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão ou mediana e intervalos interquartis quando paramétricos ou não-paramétricos, respectivamente.

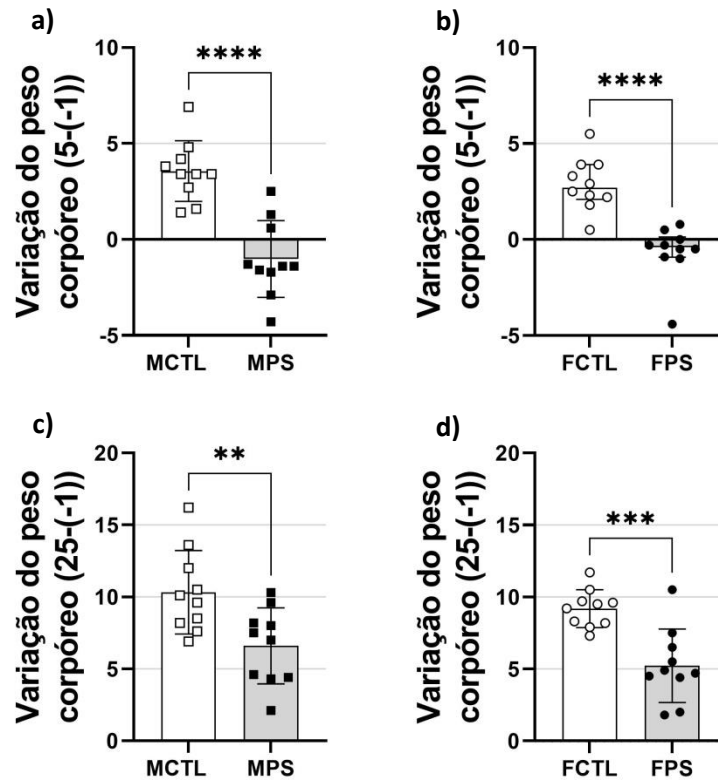
### 3 RESULTADOS

*A perturbação do sono alterou a variação da massa corporal inicial e final de machos e fêmeas:* Os pesos corpóreos foram similares entre grupos controle e perturbação de sono antes do início e permanecem sem diferenças significantes ao longo do tratamento (**Figs. 3a e b**). Contudo, a análise da variação de peso corpóreo entre os dias -1 e 5, revelou perda de peso significativa nos grupos MPS (**Fig. 4a**) e FPS (**Fig. 4b**). A variação de peso corpóreo entre os dias -1 e 25 também manteve esse perfil de resposta nos grupos MPS (**Fig. 4c**) e FPS (**Fig. 4d**).



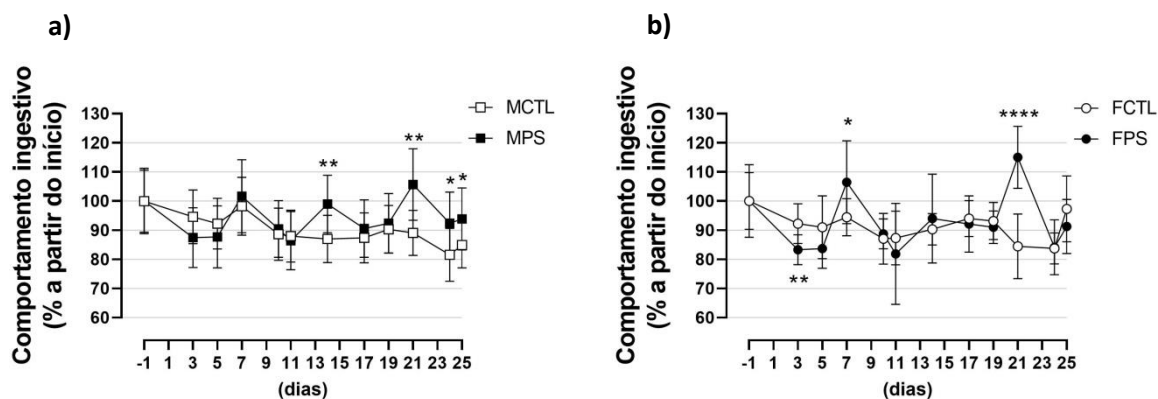
**Figura 3.** A perturbação de sono não alterou significativamente os pesos corpóreos ao longo do tratamento. Gráfico à esquerda (**Fig. 3a**) se refere evolução do peso corpóreo durante o tratamento nos grupos de Machos e (**Fig. 3b**) nos grupos de fêmeas. N=10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita em cada 'endpoint' da abcissa utilizando Teste *t* de Student não pareado. \*P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\*\* P<0,0001.

Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

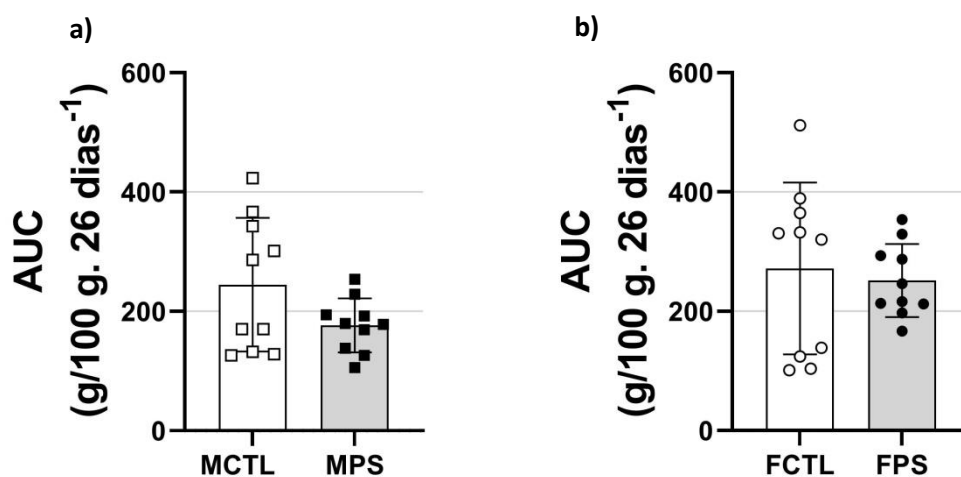


**Figura 4.** A perturbação de sono causa alteração na variação do peso corpóreo. Gráfico (**Fig. 4a**) se refere a variação de peso corpóreo em gramas nos grupos de Machos entre os dias -1 e 5 e gráfico (**Fig. 4b**) nos grupos de Fêmeas. Gráfico (**Fig. 4c**) se refere a variação do peso corpóreo em gramas nos grupos de Machos entre os dias -1 e 25 e (**Fig. 4d**) nos grupos de Fêmeas. N=10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

**A perturbação de sono alterou o comportamento ingestivo de machos e fêmeas:** A perturbação de sono resultou em menor ingestão alimentar no dia 3 no grupo FPS em relação ao grupo FCTL (**Fig. 5b**) e maior consumo alimentar nos dias referentes ao período de descanso, sendo significativo nos dias 14 e 21 para machos (**Fig. 5a**) e dias 7 e 21 para fêmeas (**Fig. 5b**). Ainda, os animais machos tiveram maior ingestão alimentar na última semana de tratamento, observado nos dias 23 e 25 (**Fig. 5a**). Não houve diferença nos valores quando analisados de forma geral, ou seja, por meio da área-abaixo-da-curva (AUC) (**Fig. 6a e b**).



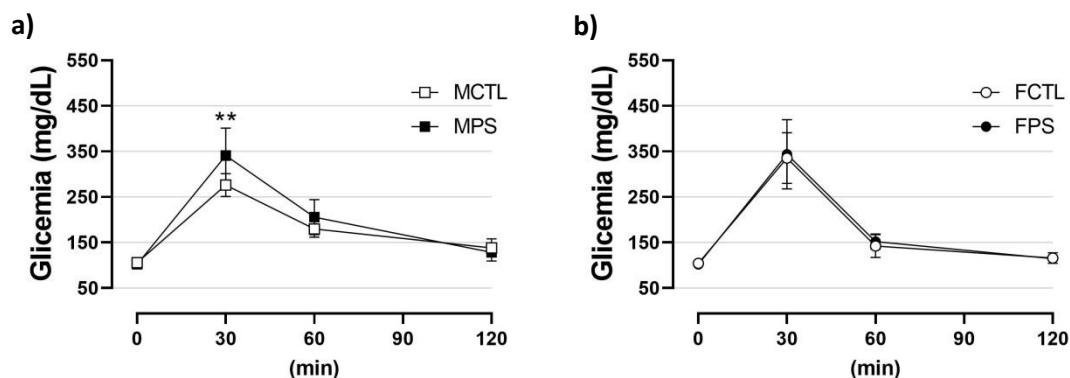
**Figura 5.** A perturbação de sono afeta a ingestão alimentar de ratos e ratas. Gráfico à esquerda (**Fig. 5a**) se refere a quantificação da ingestão alimentar durante o tratamento nos machos enquanto o gráfico à direita (**Fig. 5b**) mostra os dados nas fêmeas. N=10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados a partir da obtenção dos valores em g por 100g de peso corpóreo ingeridas no dia '-1'. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita em cada 'endpoint' da abscissa utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.



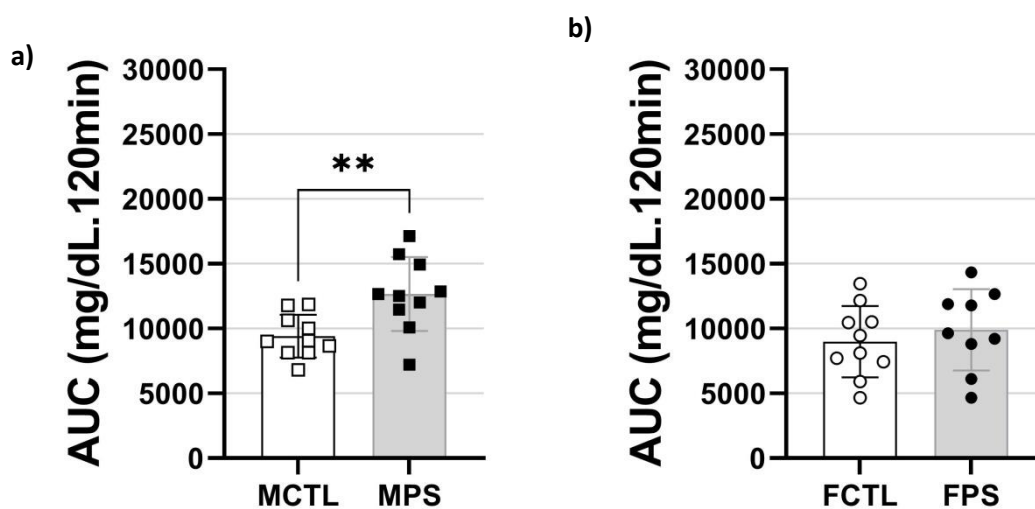
**Figura 6.** AUC ( $\text{g}/100\text{g} \cdot 26\text{dias}^{-1}$ ). Gráfico (**Fig. 6a**) se refere à área abaixo da curva de comportamento ingestivo dos grupos de machos e (**Fig. 6b**) dos grupos de fêmeas. N=10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados a partir do valor basal. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

**A perturbação do sono causou intolerância à glicose em machos, mas não em fêmeas após 4 semanas de tratamento:** Os valores de glicemia basal foram similares entre os grupos de machos e fêmeas. No teste de tolerância à glicose intraperitoneal, machos que passaram pela perturbação de sono (MPS) tiveram menor tolerância à sobrecarga de glicose, como pode ser observado no minuto 30 (**Fig. 7a**). As fêmeas submetidas a

perturbação do sono não apresentaram alteração ao longo do teste (**Fig. 7b**). Os valores de AUC, calculada a partir de valores normalizados pela glicemia basal, foi maior no grupo MPS em relação do grupo MCTL (**Fig. 8a**) e não foram observadas alterações significativas entre as fêmeas (**Fig. 8b**).

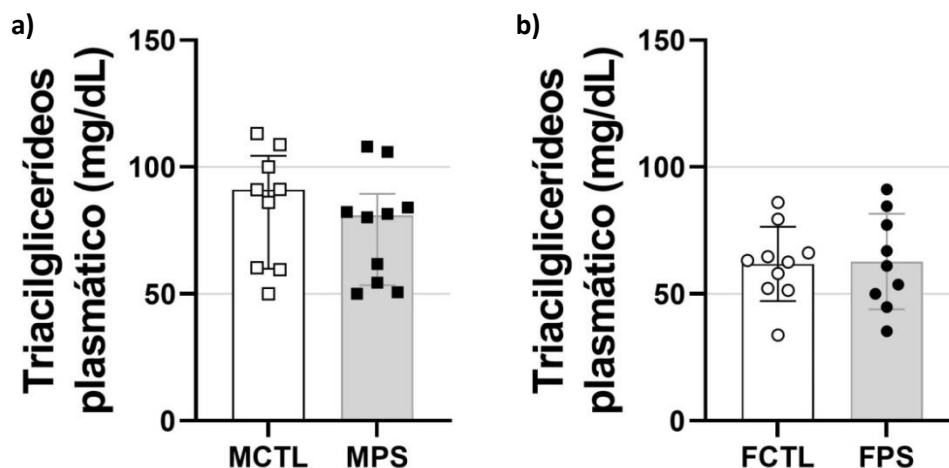


**Figura 7.** A perturbação de sono causa intolerância à glicose em machos, mas não em fêmeas. Gráfico (**Fig. 7a**) se refere a glicemia durante o Teste de Tolerância a Glicose intraperitoneal dos grupos de machos e (**Fig. 7b**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita em cada 'endpoint' da abcissa utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea foi perdida no decorrer do experimento.



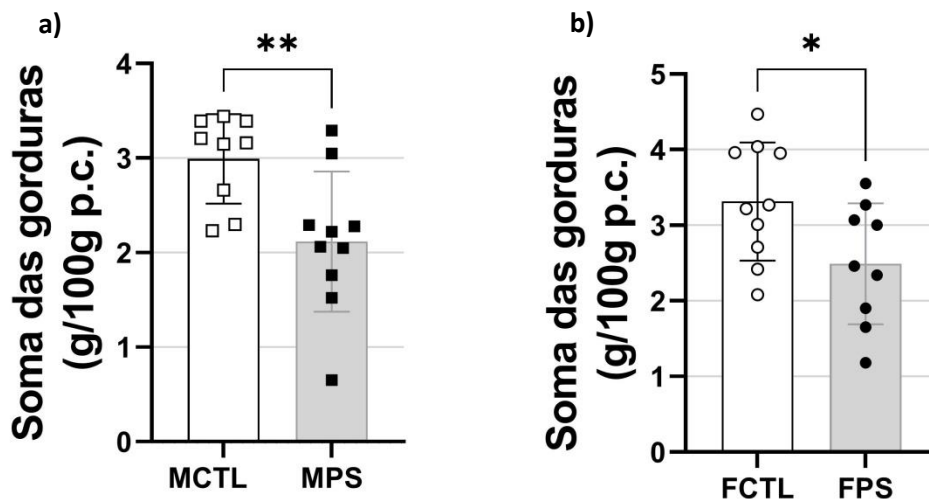
**Figura 8.** AUC (mg/dL.120min). Gráfico (**Fig. 8a**) se refere à área abaixo da curva de glicemia durante o Teste de Tolerância a Glicose intraperitoneal dos grupos de machos e (**Fig. 8b**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados a partir do valor de partida. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea foi perdida no decorrer do experimento.

*A perturbação de sono não alterou valores de triacilglicerídeos plasmáticos de machos e fêmeas:* Os valores de triacilglicerídeos plasmático se manteve inalterado entre os grupos machos (**Fig. 9a**) e fêmeas (**Fig. 9b**) após submissão ao protocolo experimental de perturbação do sono.



**Figura 9.** A perturbação de sono não altera valores de triacilglicerídeos plasmático. Gráfico (**Fig. 9a**) se refere a valores de triacilglicerídeos plasmático em mg/dL dos grupos de machos e (**Fig. 9b**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados são expressos em mediana e intervalo interquartil para (**Fig. 9a**) e média  $\pm$  desvio padrão para (**Fig. 9b**). A análise foi feita utilizando Mann-Whitney (**Fig. 9a**) e Teste *t* de Student não pareado (**Fig. 9b**). \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

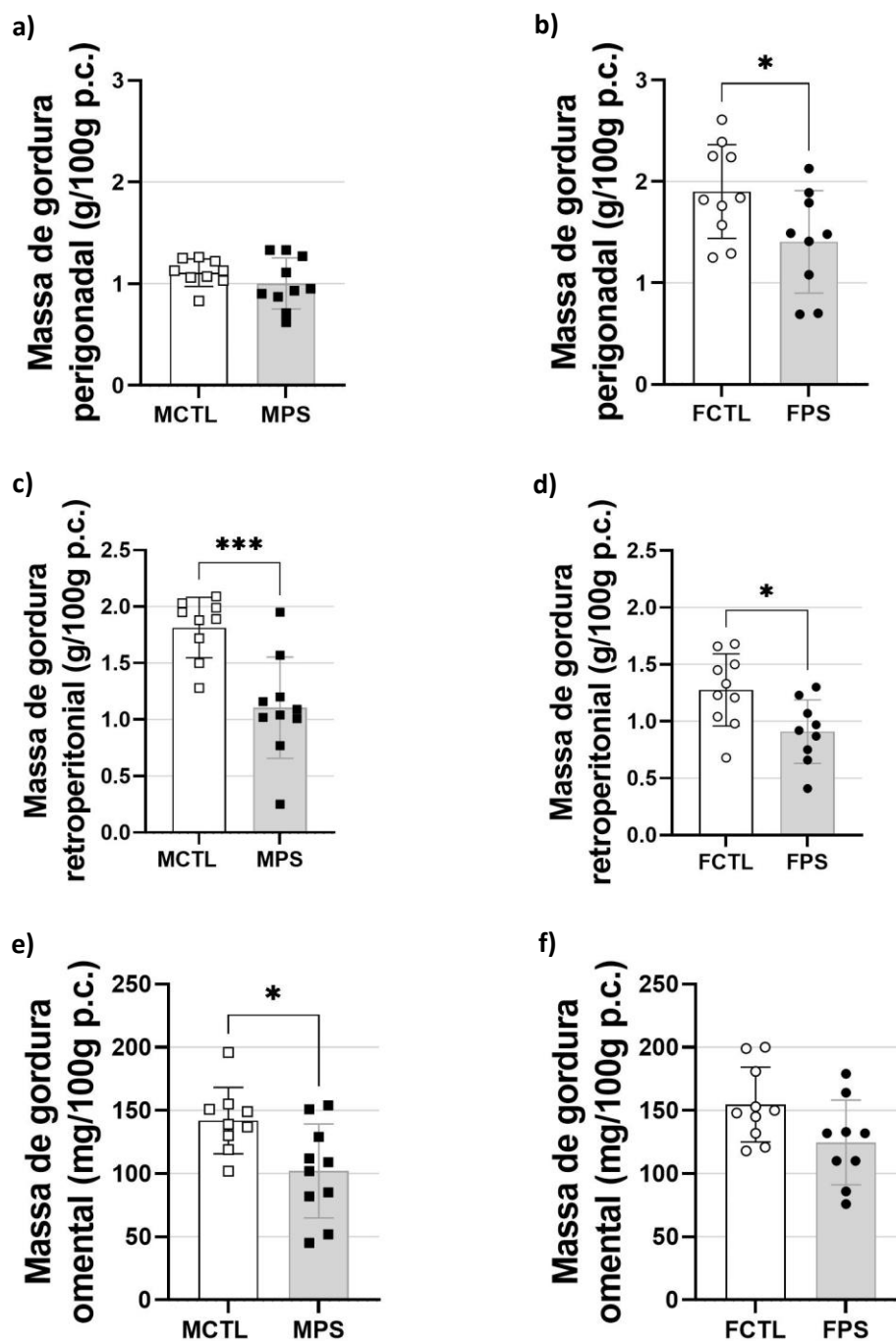
*A perturbação de sono causou diminuição da adiposidade visceral de machos e fêmeas:* A soma dos depósitos de gordura visceral (gorduras perigonadal, retroperitoneal e omental) foi menor nos ratos (**Fig. 10a**) e ratas (**Fig. 10b**) submetidos ao protocolo de perturbação de sono. Machos MPS apresentaram menores depósitos de gordura retroperitoneal (**Fig. 11c**) e omental (**Fig. 11e**), enquanto fêmeas FPS apresentaram menores depósitos de gorduras perigonadal (**Fig. 11b**) e retroperitoneal (**Fig. 11d**).



**Figura 10.** A perturbação de sono causa diminuição dos depósitos de adiposidade visceral de machos e fêmeas. Gráfico (**Fig. 10a**) se refere a soma dos valores de depósitos de gordura visceral em gramas dos grupos de machos e (**Fig. 10b**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais:

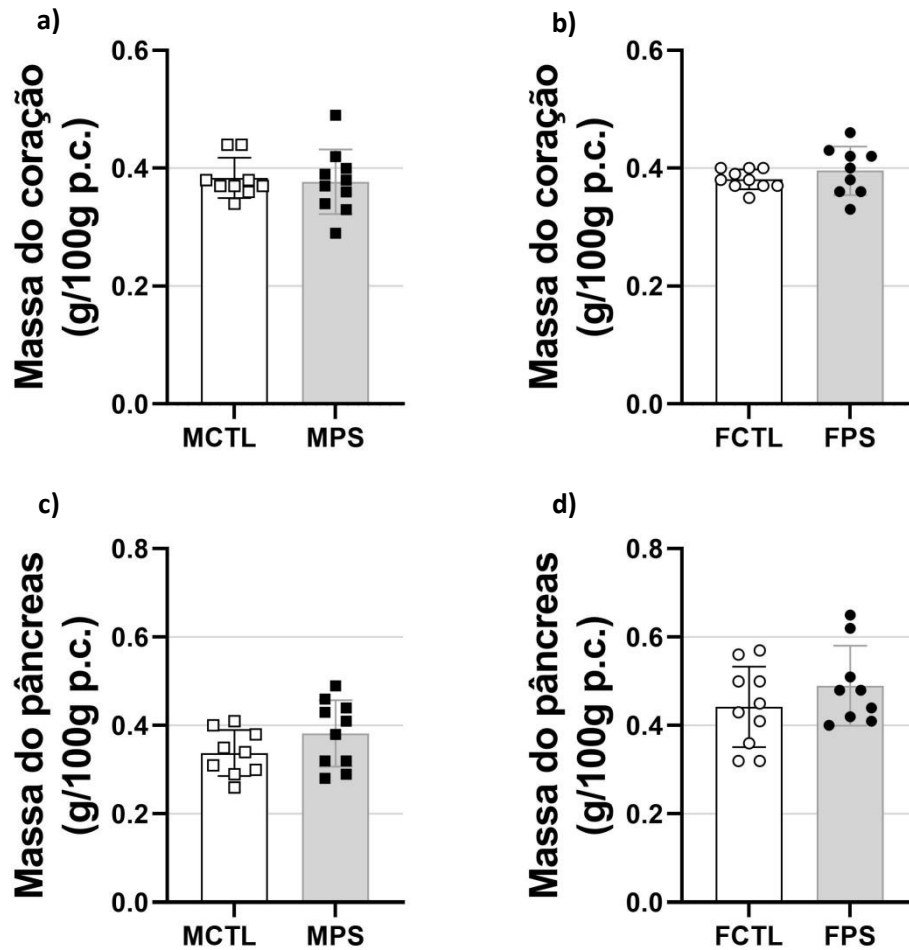
MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados pelo peso do animal \*100. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.



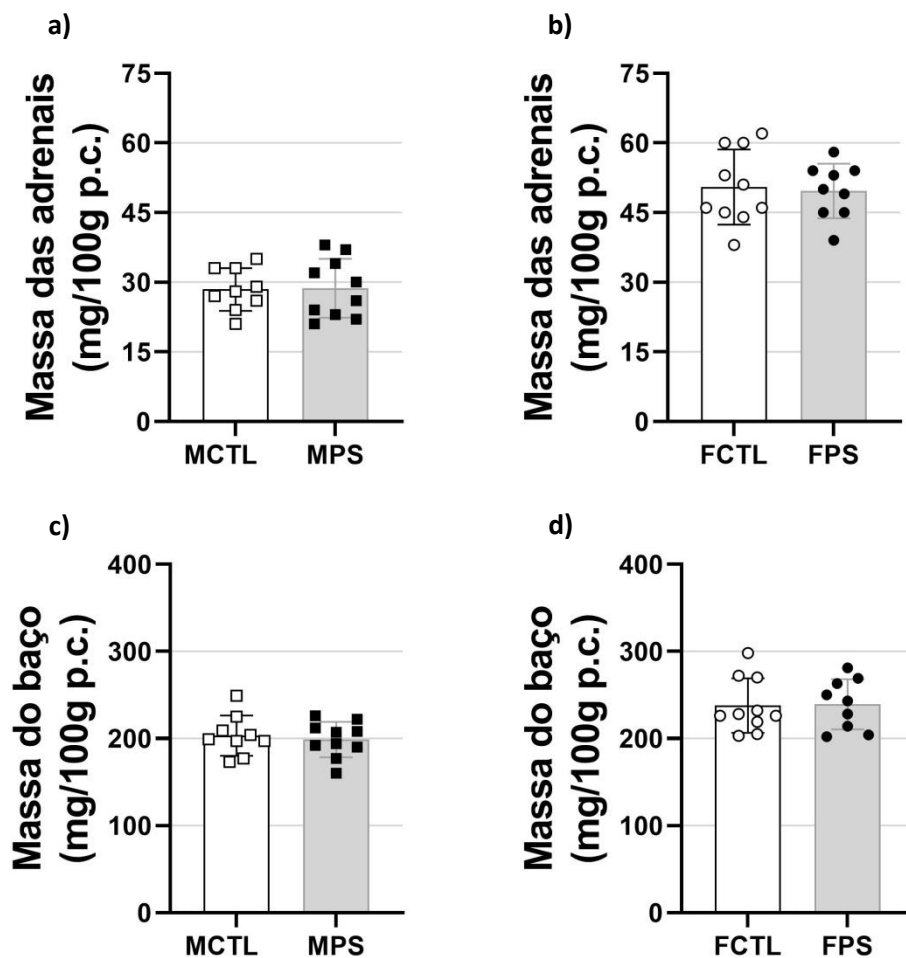


**Figura 11.** A perturbação de sono causa diminuição da deposição de gordura visceral em machos e fêmeas. Gráfico (**Fig. 11a**) se refere a massa de gordura perigonadal em gramas dos grupos de machos e (**Fig. 11b**) dos grupos de fêmeas. Gráfico (**Fig. 11c**) se refere a massa de gordura retroperitoneal em gramas dos grupos de machos e (**Fig. 11d**) dos grupos de fêmeas. Gráfico (**Fig. 11e**) se refere a massa de gordura omental em miligramas dos grupos de machos e (**Fig. 11f**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados pelo peso do animal \*100. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

A perturbação de sono não alterou a massa de órgãos metabólicos em ambos os sexos: Não se observou alteração na massa do coração (Fig. 12a e b), pâncreas (Fig. 12c e d), glândulas adrenais (Fig. 13a e b) e baço (Fig. 13c e d) entre os grupos.



**Figura 12.** A perturbação de sono não altera a massa de órgãos metabólicos. Gráfico (Fig. 12a) se refere a massa do coração em gramas dos grupos de machos e (Fig. 12b) dos grupos de fêmeas. Gráfico (Fig. 12c) se refere a massa do pâncreas em gramas dos grupos de machos e (Fig. 12d) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados pelo peso do animal \*100. Os dados são expressos em média ± desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \*P<0,05, \*\* P<0,01, \*\*\*\* P<0,0001. Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.



**Figura 13.** A perturbação de sono não altera a massa de órgãos metabólicos. Gráfico (**Fig. 13a**) se refere a massa das adrenais em miligramas dos grupos de machos e (**Fig. 13b**) dos grupos de fêmeas. Gráfico (**Fig. 13c**) se refere a massa do baço em miligramas dos grupos de machos e (**Fig. 13d**) dos grupos de fêmeas. N=9-10 para esta figura. Grupos experimentais: MCTL- machos controle, MPS- machos perturbação de sono, FCTL- fêmeas controle e FPS- fêmeas perturbação de sono. Os dados foram normalizados pelo peso do animal \*100. Os dados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A análise foi feita utilizando Teste *t* de Student não pareado. \* $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*\*  $P \leq 0,0001$ . Uma fêmea e um macho foram perdidos no decorrer do tratamento.

## 4 DISCUSSÃO

O impacto da privação de sono sobre a saúde humana e animal, seja por redução da duração total e/ou pela fragmentação do sono, logo, quanti e qualitativas, respectivamente, é tema que vem sendo amplamente debatido na literatura científica. Buscando mimetizar um contexto de adiamento do descanso e de antecipação do despertar de nossa sociedade, elaboramos um protocolo experimental não descrito até o momento na literatura onde revelamos os seguintes impactos metabólicos: 1) redução do ganho de massa corpórea, mais especificamente por perda de massa adiposa, 2) alternância entre redução e aumento da ingestão alimentar, sendo este último no período equivalente ao descanso e 3) intolerância à glicose nos machos, e uma aparente maior resiliência metabólica nas fêmeas.

As evidências acerca dos efeitos da diminuição da quantidade ou da baixa qualidade de sono no organismo são baseadas em estudos que interferem na quantidade ou na qualidade do sono de forma experimental bem como em estudos populacionais em que estes parâmetros são auto reportados pelos voluntários (Colativo et al., 2013). Estudos recentes vêm revelando que estes problemas com o regime de sono são considerados fatores de risco importantes para doenças cardiovasculares, câncer e síndromes metabólicas (Garaulet et al., 2010). Distúrbios de sono também são associados ao aumento da prevalência de obesidade e diabetes tipo 2, devido um conjunto de desfechos (e.g., ganho de peso, aumento de apetite e diminuição de gasto energético) que se coadunam no longo prazo (Knutson et al., 2007). Porém, o conhecimento sobre os mecanismos pelos quais a privação de sono impacta negativamente sobre o metabolismo ainda são inconclusivos (Reutrakul; Van Carter, 2018).

A redução do ganho de peso, seja no curto ou no longo prazo, como observamos em nosso estudo, pode ser interpretado sob uma combinação de inúmeros aspectos. Primeiro, não houve um aumento da ingestão alimentar no período correspondente à exposição ao protocolo experimental (segundas- as sextas-feiras). Segundo, estes animais permaneceram 1/6 (16%) de seu ciclo de 24 h em estado de vigília enquanto os respectivos grupos controles puderam se manter em repouso. Terceiro, no longo prazo (pós-eutanásia), identificamos redução da massa adiposa visceral sem alteração da concentração plasmática de triacilglicerídeos, o que deve indicar um estado catabólico

que tenha favorecido maior  $\beta$ -oxidação. Quarto, o contexto de privação em si pode desencadear um quadro de estresse que exerceria influência sobre o quadro catabólico.

Diversos estudos com privações prolongadas de sono demonstram uma ativação do eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal), através de concentrações elevadas de ACTH (adrenocorticotropina) e corticosterona (Galvão et al, 2009; Hipolide et al., 2006; Suchecki et al., 2002; Suchecki et al., 1998). Noventa e seis horas de privação de sono fazendo uso do método de plataformas individuais resultou em maior quantidade de ACTH e corticosterona plasmáticos (Galvão et al., 2009), assim como maior presença de células reativas a orexina no hipotálamo lateral, neuropeptídeo que participa da regulação da ingestão alimentar e metabolismo energético (apud Bernardis; Bellinger, 1996). O aumento de corticosterona, principal glicocorticoide dos roedores, pode aumentar os níveis de glicose sanguínea por aumentar a gliconeogênese, e promover um estado catabólico periférico, gerando lipólise e perda de tecido adiposo (Galvão, 2007 apud Pecoraro et al, 2006; Sapolsky et al, 2000).

Nos nossos resultados, observamos variações na ingestão alimentar nos grupos de perturbação de sono, sendo menores que dos respectivos controles durante os dias de tratamento. A literatura descreve a relação entre estresse e diminuição da ingestão alimentar. Após estresse de 15 min diários por 3 dias seguidos, utilizando nado forçado, foi suficiente para que ratos machos e fêmeas apresentassem redução do peso corporal, assim como redução da quantidade de calorias ingeridas (Diane et al., 2008). Animais que passam por estresse de restrição ou imobilização por 1 h diária por 27 dias apresentam redução da ingestão alimentar, especialmente na marca dos 7 primeiros dias. Usando um protocolo mais agressivo (2 h diárias por 14 dias) os autores observaram respostas anoréxigenas nos dias 1, 10 e 14, que esteve associado a perda inicial de peso e hipertrofia das glândulas adrenais (Martí et l., 1994). Apesar de nossos resultados apresentarem o mesmo padrão de variação da ingestão nos períodos de tratamento, não observamos diferença no peso das adrenais, quando normalizadas pelos pesos dos animais, talvez não se tratando de um estresse de manipulação tão intenso.

Nos períodos de descanso, correspondente aos finais de semana, observamos maior ingestão alimentar nos grupos MPS e FPS, ainda que a resposta não tenha sido homogênea ao longo de todos os finais de semana. Esse comportamento orexígeno pode ser entendido como resultante de menor sinalização catabólica, de uma menor concentração de leptina e até mesmo como um eventual componente hedônico pós-

cessação do estresse. Processos hedônicos estão relacionados com a redução da ativação do eixo HPA, o que pode favorecer o aumento da ingestão alimentar, assim como ingestão de alimentos mais gordurosos, e desenvolvimento de obesidade (Maniam; Morris, 2012). A hipótese relacionada a menor concentração de leptina foi previamente demonstrada em um modelo de privação de sono (96 h) em ratos em que houve aumento da ingestão alimentar a partir do terceiro dia e perda de tecido adiposo (Galvão, 2007).

É importante destacarmos que nos últimos dias do nosso protocolo experimental, observamos que os machos submetidos ao protocolo de perturbação ingeriam maior quantidade de ração do que os seus respectivos controles, quando normalizado pela massa corpórea e equiparado ao seu estado basal (pré-protocolo). É possível que se este protocolo fosse estendido por maior período, estes animais, predominantemente os machos, apresentassem maior massa corpórea. Este padrão foi observado em um estudo com roedores após serem submetidos a diminuição do ciclo claro/escuro de 12h/12h para 10h/10h por 10 semanas seguidas (Karatsoreos et al. 2011). Neste estudo os autores demonstraram que os animais começaram a apresentar maior ganho de peso em relação ao grupo controle a partir da semana 6, que se manteve até o final dos experimentos. Ainda que especulativo para o nosso contexto, podemos tirar alguma lição do fenômeno conhecido como ‘catch-up growth’ na área pediátrica, que é quando se nota um reganho de peso acima do normal após o indivíduo passar por uma privação de nutriente ou de energia em fases críticas do desenvolvimento. Apesar de não ser o nosso caso, esse é um fenômeno que demonstra os riscos metabólicos quando se associa estágios de privação com posterior abundância de energia (Cho, Suh, 2016).

A despeito de não termos encontrado dislipidemia com base nos valores de triacilglicerol plasmáticos, há evidências de que a privação de sono afete as concentrações de lipídeos plasmáticos. Diferentes estudos demonstraram associação entre a privação de sono e a redução das concentrações de colesterol e triglicérides em ratos machos e fêmeas (Zhan et al., 2016; Andersen et al., 2004; Antunes et al., 2007). Estes estudos utilizaram tanto modelos de privações de sono extremas (96 h contínuas) (Andersen et al., 2004; Antunes et al., 2007), quanto privações mais amenas, porém por maiores períodos como 6 h contínuas diárias por 4 semanas (Zhan et al., 2016). Assim, mesmo nos contextos de privação de sono mais amenas, se tratam de protocolos mais

intensos que o nosso, reforçando a ideia do catabolismo e a demanda de substratos lipídicos para a manutenção da oxidação celular.

Nosso protocolo de perturbação do sono foi suficiente para desencadear intolerância à glicose nos machos, sem qualquer outra alteração glicêmica (i.e., glicemia basal) após as quatro semanas de exposição. Alterações na homeostase glicêmica são bem reportadas na literatura quando se trata de contextos de privação do sono. Por exemplo, 6 h de privação de sono em ratos machos por 4 semanas resulta em maiores valores glicêmicos a partir de 4 dias, se mantendo até o final do protocolo, quando também foi observado menor tolerância a glicose (Zhan et al. 2016). Por outro lado, uma única exposição a 4 h de privação do sono em ratos machos não causa modificação nos valores basais de glicose sanguínea, mas já resultou em alterações na tolerância à glicose logo após o período de privação (Pawan et al. 2016). Essa intolerância à glicose poderia ser causada por uma menor secreção de insulina, fenômeno associado à privação de sono (Hipólido et al. 2006). Estes autores encontraram menor concentração de insulina plasmática em ratos após 96 h de privação de sono pelo método de plataformas individuais, que se manteve mesmo após 96 h de recuperação com sono livre. Em complemento, uma privação de sono crônica em ratos machos através de movimento forçado por 20 h diárias, de segunda- a sexta-feira por 4 semanas, resultou em redução das concentrações de insulina plasmática ao final da primeira e quarta semanas de tratamento, sem alterações nos níveis aos respectivos finais de semana de descanso (Barf et al. 2012).

Tendo em mente o exposto e considerando o ciclo polifásico de sono apresentado pelos roedores, assim como o tempo de permanência nas gaiolas nos momentos em que não estiveram submetidos ao aparato, não somos capazes de afirmar que houve, efetivamente, redução das horas dormidas pelos grupos PS em relação aos controles, visto que teriam a oportunidade de repor seu descanso durante o ciclo escuro. Porém, garantimos ao menos uma perturbação dos ciclos naturais destes animais, que permaneceu inalterado nos grupos controle, e foi suficiente para demonstrar tais desfechos.

## **5 CONCLUSÃO**

Concluimos que a perturbação parcial e crônica do sono em ratos reduz o ganho de peso, a adiposidade visceral e, interfere no comportamento ingestivo independentemente do sexo. Essas alterações ocorrem em paralelo a menor tolerância à glicose nos machos. Esses dados alertam para os cuidados com a quantidade e qualidade do sono e os seus impactos sobre a saúde metabólica.



## REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, M. L. et al. Effects of paradoxical sleep deprivation on blood parameters associated with cardiovascular risk in aged rats. *Experimental Gerontology*, v. 39, n. 5, p. 817–824, maio 2004.
- ANTUNES, I. et al. Effects of paradoxical sleep deprivation on blood parameters associated with cardiovascular risk in intact and ovariectomized rats compared with male rats. *Behavioural Brain Research*, v. 176, n. 2, p. 187–192, 25 jan. 2007.
- BARF, R. P. et al. Increased food intake and changes in metabolic hormones in response to chronic sleep restriction alternated with short periods of sleep allowance. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 302, n. 1, p. R112–R117, jan. 2012.
- BROUWER, A. et al. Impact of sleep deprivation and high-fat feeding on insulin sensitivity and beta cell function in dogs. *Diabetologia*, v.63, p.875-884, 2020.
- BUYSSE, D. J. Sleep Health: Can We Define It? Does It Matter? *Seep*, v.37, n.1, p.9-17, 2014.
- CAPPUCCIO, F. et al. Quantity and Quality of Sleep and Incidence of Type 2 Diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, v.33, p.414–420, 2010.
- CARSKADON, MA, DEMENT WC. Normal human sleep: an overview. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, editores. *Principles and practice of sleep medicine*. 4ª ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.13-23.
- CHO, W. K.; SUH, B.-K. Catch-up growth and catch-up fat in children born small for gestational age. *Korean Journal of Pediatrics*, v. 59, n. 1, p. 1, 2016.
- COLAVITO, V. et al. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. *Frontiers in Systems Neuroscience*, v.7, n.106. p.1-17, 2013.
- DEBOER, T. Technologies of sleep research. *Cellular and molecular life sciences*, v.64, n.1, p. 1222-1235, 2007.
- DIANE, A. et al. Acute stress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite*, v. 50, n. 2-3, p. 397–407, mar. 2008.
- EMERSON, K. G. Coping with being cooped up: Social distancing during COVID-19 among 60+ in the United States. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 44, p. 1, 29 jun. 2020.
- GALVÃO, M. DE O. L. et al. Paradoxical sleep deprivation activates hypothalamic nuclei that regulate food intake and stress response. *Psychoneuroendocrinology*, v. 34, n. 8, p. 1176–1183, set. 2009.
- GALVÃO, M. DE O.L. Efeito da privação de sono paradoxal sobre a ativação de núcleos hipotalâmicos envolvidos na ingestão alimentar. 2007. 65 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2007.
- GARAULET, M.; ORDOVÁS, J. M.; MADRID, J. A. The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. *International Journal of Obesity*, v.34, n.12, p.1667–1683, 2010.
- GOMES, M.M. et al. Neurofisiologia do sono e aspectos farmacoterapêuticos dos seus transtornos. *Rev Bras Neurol*, v.46, n.1, p.5-15, 2010.
- Hipolide, D. et al. Paradoxical sleep deprivation and sleep recovery: effects on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, energy balance and body composition of rats. *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 18, no. 4, pp. 231–238, 2006.

- KARATSOREOS, I. N. et al. Disruption of circadian clocks has ramifications metabolism, brain and behavior. *PNAS*, v.108, n.4, p.1657-1652, 2011.
- KNUTSON, K.L. et al. The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Ver*, v.11, n.3, p.163-78, 2007.
- MANIAM, J.; MORRIS, M. J. The link between stress and feeding behaviour. *Neuropharmacology*, v. 63, n. 1, p. 97–110, jul. 2012.
- MARTÍ, O. et al. Effects of chronic stress on food intake in rats: Influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiology & Behavior*, v. 55, n. 4, p. 747–753, abr. 1994.
- MCCOY, J.G.; STRECKER, R.E. The cognitive cost of sleep lost, *Neurobiology of Learning and Memory*, v.96, Issue 4, p.564-582, 2011.
- MIGNOT, E. Why we sleep: the temporal organization of recovery. *PLoS Biol*, v.6, n.4, 2008.
- NAKAMURA, Y. et al. Relationship between sleep duration and clustering of metabolic syndrome diagnostic components. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, p. 119, abr. 2011.
- OLIVEIRA, E. M. et al. Late Effects of Sleep Restriction: Potentiating Weight Gain and Insulin Resistance Arising from a High-Fat Diet in Mice. *Obesity*, v.23, n.2, p.391-398, 2015.
- PAWAN, K. J. et al. Sleep restriction acutely impairs glucose tolerance in rats. *Physiological Reports*, v.4, issue.12, p.1-12, 2016.
- RAFACHO, A. et al. Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone-induced insulin resistance. *Pancreas*, v.36, n.3, p. 284-293, 2008.
- RAFACHO, A. et al. High doses of dexamethasone induce increased beta-cell proliferation in pancreatic rat islets. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, v.296, n.4, e681-689, 2009.
- RAFACHO, A. et al. The adaptive compensations in endocrine pancreas from glucocorticoid-treated rats are reversible after the interruption of treatment. *Acta Physiologica*, v.200, n.3, p.223-235, 2010.
- RAFACHO, A. et al. Morphofunctional Alterations in Endocrine Pancreas of Short- and Long-term Dexamethasone-treated Rats. *Hormone and Metabolic Research*, v.42, n.4, p.275-281, 2011.
- REUTRAKUL, S.; VAN CAUTER, E. Sleep influences on obesity, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes. *Metabolism Clinical and Experimental*, v.84, p.56–66, 2018.
- REVEL, F.G. et al. Rodent models of insomnia: are view of experimental procedures that induce sleep disturbances. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*. v.33, n.1, p.874–899, 2009.
- SPIEGEL, K. et al. Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk. *Nat Rev Endocrinol*, v.5, n.5, p.253-261, 2009.
- SUCHECKI, D. et al. Increased ACTH and corticosterone secretion induced by different methods of paradoxical sleep deprivation. *Journal of Sleep Research*, v. 7, n. 4, p. 276–281, dez. 1998.
- SUCHECKI, D.; TIBA, P. A.; TUFIK, S. Paradoxical sleep deprivation facilitates subsequent corticosterone response to a mild stressor in rats. *Neuroscience Letters*, v. 320, n. 1-2, p. 45–48, mar. 2002.
- THOTH, L. A.; BHARGAVA, P. Animal Models of Sleep Disorders. *Comparative Medicine*, v.63, n.2, p.91-104, 2013.
- VAN DONGEN, H.P. et al. The cumulative cost of additional wakefulness: dose-response effects on neurobehavioral functions and sleep physiology from chronic sleep restriction and total sleep deprivation. *Sleep*, v.26, n.2, p.117-126, 2003.

VENANCIO, D. P.; SUCHECKI, D. Prolonged REM sleep restriction induces metabolic syndrome-related changes: Mediation by pro-inflammatory cytokines. *Brain, Behavior, and Immunity*, v.47, p.109-117, 2015.

WALKER, M. *Why We Sleep: the new science of sleep and dreams*. New York: Scribner, 368p., 2018.

ZHAN, S. et al. Decrease in Circulating Fatty Acids Is Associated with Islet Dysfunction in Chronically Sleep-Restricted Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 12, p. 2102, 14 dez. 2016.

ZHANG, W. et al. A Rat Model of Central Fatigue Using a Modified Multiple Platform Method. *Journal of Visualized Experiments*, v.138, e57362, p.1-10, 2018.