

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA**

FACULTATEA DE MEDICINĂ



TEZĂ DE DOCTORAT

**EPECTELE NEUROPROTECTIVE ALE RESTRICTIEI CALORICE
ASUPRA PARAMETRILOR BIOCHIMICI SI RECUPERARII
FUNCTIONALE DUPA UN ACCIDENT VASCULAR**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC
Prof. univ. dr. Aurel Popa**

**DOCTORAND
Ciobanu Ovidiu**

**CRAIOVA
2017**

Atacul cerebral este o problemă majoră de sănătate pe plan mondial. În țările industrializate, este cea mai importantă cauză a dizabilității pe termen lung, și a treia cauza principala de deces, după bolile de inimă și toate tipurile de cancer. Persoanele în vârstă prezintă cea mai mare incidență de atac cerebral, 75% dintre victimele atacului cerebral au peste 65 de ani, (Rothwell și alții, 2005; Asociația Americană de Cardiologie, 2006) și se recuperează mai puțin bine după atac (Brown și alții, 2003; Badan și alții, 2003; Markus și alții, 2005).

Incidența relativ ridicată a atacului cerebral se poate datora în parte impactului numeroșilor factori de risc cunoscuți asupra acestei populații (Donnan și alții, 2008): hipertensiunea arterială, diabetul, colesterolul mărit, fumatul, alcoolismul, obezitatea, stresul și stilul de viață sedentar. Teoretic, toate intervențiile medicamentoase de succes în atacul cerebral pre-clinic și experimental, nu au reușit să reediteze acest succes în condiții clinice. Noi și alții am presupus că aceasta se datorează incapacității acestor studii pre-clinice de a considera în amănunt îmbătrânirea și co-morbiditățile atacului cerebral care sunt prezente clinic (Murray și alții, 2012; Buga și alții, 2013; Sandu și alții, 2016; Haley și Lawrence, 2016). Este destul de posibil ca o intervenție eficientă la un animal anormal să apară atunci când sunt prezenți factori de co-morbiditate. Mai mult, este din ce în ce mai general acceptat că un număr de factori de risc foarte răspândiți, cum ar fi hipertensiunea, diabetul și ateroscleroza acționează ca ”participanți tăcuți” la neuroinflamare – nu doar instituind acest statut ca mecanism patofiziologic central, ci alimentându-l constant. Studiile clinice au arătat că obezitatea este caracterizată de un indice de masă corporală (BMI) de cel puțin 30kg/m², în timp ce subiecții în afara acestei limite sunt considerați supraponderali. Mai important, se pare că în cazul pacienților obezi, fiecare 5kg/m² sunt asociate cu o mortalitate crescută cu 40%, dacă pacientul suferă orice tip de atac cerebral (Goldstein LB, 2011). Prin urmare, în prezent, AHA recomandă scăderea greutatei la cei supraponderali și obezi, pentru a reduce riscul de atac cerebral (Goldstein LB, 2011). Recent, aceeași organizație medicală a recomandat o normă simplă denumită ”7 reguli simple pentru viață” pentru prevenirea evenimentelor cardiovasculare incluzând atacul cerebral. Aceasta include menținerea unor valori normale a greutății, glucozei, tensiunii și colesterolului, menținerea unei vieți active din punct de vedere fizic, renunțarea la fumat și menținerea unui regim nutrițional sănătos. Oricum, cel puțin 4 dintre criterii trebuie îndeplinite pentru o evoluție pozitivă după atacul cerebral (Lin MP, 2015). De fapt, obezitatea nu este niciodată descrisă ca o anomalie de sine stătătoare, deoarece prin ea însăși duce la alte complicații patologice cum ar fi hipertensiunea, diabetul și hiper-colesterolemia (Towfighi și alții, 2009; Strazzullo și alții, 2010; Li și alții, 2016). Speakman și Mitchell (2011) au raportat

că restricționarea calorică este asociată cu mai multe modificări fiziologice cum sunt: abolirea funcțiilor reproductive sexuale, scăderea temperaturii corporale, în timp ce în paralel se produce o reducere a insulinei libere și glucozei, indicând o diminuare în masa țesutului adipos alb. În plus, în paralel cu trecerea de la metabolismul carbohidrat la cel adipos, se pare că sunt activate mai multe căi moleculare prin restricționarea calorică: ținta rapamicinei (TOR), sirtuinei, kinazei activate de adenzin monofosfat și a factorului de creștere de tip insulenic (IGF-1) (Speakman și Mitchell, 2011). În acest context, ne-am propus să descriem în detaliu efectele restricționării calorice la un model de atac cerebral rozător în vârstă din familia Muridae, incluzând toți factorii clinici, comportamentali, genetici și biochimici care interacționează în acest cadru patologic. Cercetări anterioare au arătat că dacă sunt hrănite *ad libitum* (AL), aceste animale manifestă un model de depozite adipoase și obezitate într-o oarecare măsură asemănător cu cel uman. În mod remarcabil, acest tip de șobolani obezi vor dezvolta în timp atât patologie pancreatică, cum este fibroza, hiperplazia difuză și atrofia exocrină, cât și tumori mamare și pituitare (Dillberger, 1994). Șobolani au fost împărțiți la întâmplare în grupul de control (tineri, n=30; în vârstă, hrăniți *ad libitum*, n=30) și grupul în vârstă, supus unui regim restricționat caloric (CR) (n=30). Dintre aceștia, trei grupuri de șobolani (n=7 fiecare) au fost folosite pentru a măsura grăsimea corporală la tineri, în vârstă AL și în vârstă CR, înaintea intervenției chirurgicale. Trebuie avut în vedere că numărul animalelor se referă la subiecții care au supraviețuit 14 zile după atac. Greutățile corporale au variat între 290 și 360g la șobolani tineri și între 610 și 700g la șobolani în vârstă, la momentul când a fost inițiată restricționarea calorică.

Șobolani au fost ținuți în cuști standard (L=595mm x l=380mm x h=200mm), câte doi șobolani în fiecare cușcă, talajul din interiorul cuștii fiind steril, schimbat la o perioadă fixă de două zile. Cuștile cu animale au fost ținute într-un mediu controlat, la o temperatură de 22°C, umiditate 40-60% și lumină între orele 07.00-19.00, animalele având acces liber la hrană și apă. Hrana folosită a fost sub formă solidă și cuprinde un amestec cunoscut de carbohidrați, lipide și proteine. În scopul eliminării de amoniac și dioxid de carbon s-a folosit o instalație de climatizare care a avut ca obiectiv recircularea și reîmprospătarea aerului de cel puțin 10 cicluri pe oră. Animalele supuse intervenției chirurgicale au fost apoi mutate singure în cușcă evitând în acest fel posibila rănire reciprocă. Mai mult de atât, talajul a fost apoi schimbat zilnic, eliminând în acest fel și posibilul risc de infecții exogene. Șobolani ce au fost aleși pentru a fi supuși intervenției chirurgicale au avut acces nelimitat la sursa de apă, dar accesul

la mâncare a fost interzis pe o perioadă anterioară intervenției de 18 ore în scopul limitării efectului nivelului glucozei serice raportat la variația mărimii zonei de ischemie cerebrală.

Restricționarea calorică: șobolanii CR în vârstă de 20 de luni au fost hrăniți cu 70% din cantitatea medie consumată de șobolani AL de aceeași vârstă, cu un regim de 2 zile/săptămână de abținere, timp de 8 săptămâni înainte de atacul cerebral. Peleta alimentară obișnuită avea următoarea compoziție: 65% carbohidrați, 29% proteine și 6% grăsimi, cu o valoare nutrițională fiziologică de 3,3 kcal/g de peletă. Administrarea hranei a fost ajustată săptămânal și masa corporală măsurată săptămânal. Șobolanii tineri au fost hrăniți *ad libitum*. Apa potabilă a fost disponibilă AL. Șobolanilor CR li s-a administrat și un supliment de vitamine. Infarctul cerebral a fost indus prin întreruperea transcraniană a fluxului de sânge prin ridicarea arterei cerebrale medii, cu un cârlig de tungsten. Optsprezece ore înainte de intervenția chirurgicală, șobolanii au fost privați de hrană. Apa a rămas disponibilă în orice moment. Artera cerebrală medie dreaptă a fost ridicată cu un cârlig de tungsten atașat la un micromanipulator (Maerzhaeuser Precision Micro-manipulator Systems, Fine Science Tools). Ambele artere carotide comune au fost apoi ocluzionate timp de 90 de minute prin strângerea unei bucle pre-poziționate. De-a lungul operației, anestezia a fost menținută prin inhalare spontană de halotan 1-1,5% într-un amestec de 75% protoxid de azot și 25% oxigen.

Analiza statistică a fost realizată folosind totalitatea datelor, parametrice și nonparametrice, obținute în studiu. Datele parametrice au fost prezentate exprimând media plus sau minus deviația standard, iar datele nonparametrice doar ca medie. Datele parametrice au fost prelucrate și analizate, folosind tehnica ANOVA (analiza variației - *analysis of variance*) cu măsurători repetate, urmată de testul Dunnett's post-hoc, pentru a compara parametrii subgrupurilor experiment, față de parametrii subgrupurilor netratate. Datele non-parametrice au fost prelucrate prin tehnica ANOVA cu măsurători repetate, urmată de testul Bonfferoni's post-hoc, un indice *P* mai mic de 0,05 fiind considerat semnificativ.

După atacul cerebral, masa corporală a scăzut progresiv la animalele 3-mo și 20-mo hrănite *ad libitum* (Fig. 1C). În timp ce șobolanii tineri au început să câștige din nou în greutate până în ziua a 7-a, animalele în vârstă hrănite *ad libitum* s-au oprit din pierderea în greutate până în ziua a 10-a și abia dacă și-au recăpătat greutatea de dinainte de intervenția chirurgicală până în ziua a 14-a. Cu toate acestea, spre deosebire atât de șobolanii tineri, cât și de cei în vârstă hrăniți *ad libitum*, șobolanii CR în vârstă au început să câștige din nou în greutate până în ziua

a 2-a și au ajuns la valorile de dinainte de intervenția chirurgicală până în ziua a 14-a (Fig. 1C). La sfârșitul perioadei de testare, nivelurile glucozei serice au crescut semnificativ (de x ori; $p < 0,01$) la toate grupurile (Fig. 2A). Nivelul insulinei serice din perioadele de abținere s-a diminuat semnificativ (de x-ori; $p < 0,01$) prin restricționarea calorică la animalele în vârstă (Fig. 2B). Până în ziua a 7-a, nivelurile circulante ale IGF1 au scăzut semnificativ (de x ori; $p < 0,01$) la animalele în vârstă hrănite *ad libitum*, ca și la șobolanii tineri, dar nu și la animalele CR (Fig. 2D). După atacul cerebral, nivelurile acizilor grași liberi au scăzut semnificativ (de x ori; $p < 0,01$) la animalele hrănite *ad libitum* și până în ziua a 14-a și la animalele CR (Fig. 2C).

Testul mersului pe bârnă

Pentru că o prestație de succes pe puntea rotitoare necesită abilități senzorio-motorii complexe, efectele procedurii chirurgicale înseși au devenit evidente în primele 3 zile după atacul cerebral, moment în care toate animalele, inclusiv cele tinere de control, au întâmpinat dificultăți la traversarea cilindrului rotativ. După un declin abrupt al prestației pe rotarod în ziua a 3-a post-atac, șobolanii tineri au început să se amelioreze și aproape s-au recuperat până în ziua a 14-a (Fig. 3A). Prin comparație, șobolanii în vârstă hrăniți *ad lib* nu și-au revenit niciodată complet (Fig. 3A). Această situație nu s-a înregistrat la șobolanii CR în vârstă, la care recuperarea nivelurilor de performanță globală e fost mai bună decât prestația corespondenților lor AL în vârstă (Fig. 4A, linia verde vs. roșie).

Planul înclinat

La șobolanii în vârstă, atacul cerebral a alterat sever performanța la testul cu planul înclinat, iar șobolanii în vârstă hrăniți *ad libitum* s-au recuperat într-o măsură limitată pe parcursul perioadei de studiu (Fig. 4b, linia roșie). Restricționarea calorică a fost eficientă pe toată perioada studiului, și a permis șobolanilor în vârstă să se recupereze până la nivelul atins de șobolanii tineri (Fig. 4b, linia verde vs. Linia albastră).

Testul îndepărtării benzii adezive

Testul indexului de asimetrie arată diferențele dintre membrele anterioare la sensibilitatea cutanată și integrarea senzorio-motorie după atacul cerebral. Prin comparație cu animalele antrenate pre-operatoriu, animalele supuse obstrucționării arterei cerebrale mijlocii (MCAO) au demonstrat o diferență evidentă în performanța post-operatorie a membrului anterior stâng (afectat). Până în ziua a 3-a post-atac, animalele au început recuperarea și au ajuns la o

recuperare semnificativă a funcțiilor pe parcursul întregii perioade de testare în grupul hrănit CR, prin comparație cu animalele hrănite *ad libitum* (Fig. 4C, linia verde vs. linia roșie), deși nu la nivelurile atinse de șobolanii tineri (Fig. 4C, linia albastră).

Labirintul acvatic

Pe parcursul perioadei de pregătire premergătoare atacului cerebral, șobolanii au învățat să localizeze și să se cațere pe platforma ascunsă și performanța s-a îmbunătățit semnificativ în această perioadă. La toate grupurile, calea a devenit mai scurtă pe măsură ce sesiunile de pregătire progresau. Din cauza leziunii craniene, am evitat testarea animalelor în prima săptămână după atacul cerebral. Cum s-a arătat anterior, șobolanii în vârstă necesită mai mult timp pentru a se recupera comportamental după atac, față de animalele tinere (Buchold și alții, 2007). Prin urmare, lungimea traseului parcurs pentru a ajunge la platformă în al 3-lea sector a ajuns la maximum până în ziua a 7-a post-atac. După 7 zile, animalele au început să se recupereze la acest test. Cea mai bună recuperare a fost observată la grupul CR, care a demonstrat o îmbunătățire semnificativă a memoriei spațiale între zilele 7 – 14, prin comparație cu grupul de control.

Colorare imunohistochimică a zonei de infarct în ziua a 14-a, utilizând un anticorp anti-NeuN a arătat că volumele infarctelor nu au fost semnificativ diferite la animalele în vârstă hrănite *ad libitum* față de șobolanii CR în vârstă.

Expresia genelor

Gene suprastimulate: genele care au fost suprastimulate în imediata vecinătate a cortexului lezat la șobolanii CR în vârstă, prin comparație cu zona perilezională a șobolanilor în vârstă hrăniți *ad libitum*, le-am inclus pe cele asociate cu metabolismul glicogenului, semnalarea IGF, apoptoză, arteriogeneză și hipoxie (Tabelul 2). În mod remarcabil, una dintre aceste gene, *Prkaa/Prkga1*, este localizată în structuri subcelulare specifice care corespund modelului de expresie a glicogen fosforilazei și a fost asociată cu o disponibilitate crescută a energiei celulare din depozitele de glicogen (Polekhina și alții, 2003). Genele suprastimulate includ gene care au un efect neuroprotector (*Igf2*) și gene care susțin angiogeneza (*Igf2*, *Mapkapk2*). Genele pro-angiogene au demonstrat o creștere de 2,2 până la 4,2 ori în șobolanii CR în vârstă, în comparație cu șobolanii în vârstă hrăniți *ad libitum*. La fel, am observat o expresie de nivel înalt (creșteri de 2,2 până la 6,5 ori în zona perilezională la șobolanii în vârstă hrăniți *ad libitum*) a *Igf2* și *MapKap2* care promovează atât recrutarea de celule

precursoare endoteliale (EPC), cât și înglobarea în zona neovasculară, având ca rezultat o angioneneză in vivo îmbunătățită ca urmare a hipoxiei și inflamării (Maeng și alții, 2009; Limbourg și alții, 2015).

Gene substimulate: Gene substimulate în cortexul perilezional al șobolanilor în vârstă supuși restricționării calorice prin comparație cu zona perilezională a șobolanilor în vârstă hrăniți *ad libitum*, includ gene cu rol în homeostaza energetică (*Igf1r*, *Mapk10*), apoptoză (*Camk2g*), vasculogeneză (*Ppp2cb*) sau integritate tisulară (*Pmds6*, *Psmc4*, *Pmc3*, *Psmb5*) (Tabelul 3).

Camk2g leagă stresul reticulului endoplasmatic de Fas și căile apoptozice mitocondriale (Timmins și alții, 2009). Studii experimentale au arătat că o expresie redusă a subunității catalitice (*Ppp2cb*) a protein fosfatazei 2 (cunoscută anterior ca 2A), promovează inhibiția dependentă de estrogen a celulelor musculare vasculare netede (Ueda și alții, 2012) și sprijină indirect vasculogeneza. Interesant, zona corticală lezată a animalelor CR a fost mai bine protejată împotriva degradării, prin intermediul substimulării mai multor componente ale sistemului de degradare al proteazom ubiquitinei incluzând (*Pmds6*, *Psmc4*, *Pmc3*, *Psmb5*).

Transcripții care codifică insulina și receptorul factorului de creștere de tip insulenic 1 din zona perilezională a animalelor CR au fost sever substimulate (de aproximativ 5 ori). Receptorul factorului de creștere de tip insulenic (IGF-1) este activat fie prin *Igf1* sau *Igf2* și neuroprotector după leziunea cerebrală (Werner și LeRoith, 2014).

JNK3 (codificat de gena *Mapk10*) modulează echilibrul energetic ca răspuns la stresul metabolic. Studiile efectuate asupra neuronilor din hipotalamus au demonstrat că lipsa JNK3 la acest nivel provoacă hiperfagie (Vernia și alții, 2016). Mai important, întreruperea *Mapk10* (JNK3) este neuroprotectoare într-un șoarece model de ischemie, printr-un mecanism complex și puțin înțeles (Pirianov și alții, 2007).

Scăderea în greutate după atacul cerebral este o trăsătură comună atât la rozătoare cât și la subiecții umani și este legată de hrănirea defectuoasă, activitatea fizică redusă, activarea simpatetică, febră, inflamație, și dezechilibre metabolice datorate rezistenței la insulină, dislipidemie și disfuncției endoteliale. Ca rezultat, poate apărea pierderea musculară accelerată și cașexia. Prin urmare se poate specula că pacienții supraponderali ar putea avea o evoluție mai bună, dacă ținem seama de faptul că pot contracara, cel puțin teoretic, toate cele de mai sus (Scherbakov și alții, 2011). Oricum, complicațiile determinate de obezitate, inclusiv riscul de atac cerebral, depășesc cu mult beneficiile post-atac.

Înainte de atacul cerebral, animalele CR se caracterizau printr-o scădere a masei corporale, a masei țesutului adipos, a insulinei circulante și a nivelurilor de IGF1 și acizi grași liberi (FFA), în comparație cu animalele hrănite *ad libitum*. Interesant, la șobolanii CR în vârstă, nu am înregistrat o scădere a masei corporale după atac, dar am observat o refacere accelerată a masei corporale la puțin timp după. Aceasta contrazice observațiile clinice discutate de Scherbakov și alții (2011), dar sunt necesare mai multe experimente pentru a înțelege complet semnificația descoperirilor noastre. În orice caz, în studiile noastre, luarea în greutate și recuperarea comportamentală s-au îmbunătățit la animalele supuse restricționării calorice. Înainte de atacul cerebral am observat creșteri ale masei adipoase, acizilor grași liberi din ser, nivelurilor insulinei și IGF1 la șobolanii în vârstă hrăniți *ad libitum*, care sugerează o stare de intoleranță la glucoză însoțită de hiperinsulinemie. De obicei, intoleranța la glucoză este asociată cu rezistența la insulină și deficiențe de secreție de insulină la oamenii în vârstă, deși există și alți factori care pot contribui la dezvoltarea rezistenței la insulină cu timpul, cum sunt obezitatea și lipsa de activitate fizică (Chang și Halter, 2003). Prin urmare, experimentele noastre au evidențiat unele rezultate mai degrabă neașteptate în comparație cu studiile publicate anterior, care sugerează că efectul benefic al unei mase adipoase scăzute în recuperarea greutatei corporale la animalele CR se explică printr-o rezistență la insulină scăzută, care este comună atât șobolanilor în vârstă (Barzilai și Gupta, 1999), cât și oamenilor (Basu și alții, 2003). Mai mult, se știe că IGF-1 scade odată cu înaintarea în vârstă la șoareci și șobolani, ca rezultat al scăderii semnificative a capacității de sinteză a proteinelor (Sonntag și alții, 1999). Studii mai recente au raportat că restricționarea calorică reduce nivelurile de IGF-1 din plasmă cu 20% la șoareci (Berrigan și alții, 2014).

La pacienții cărora li s-a aplicat un regim caloric restrictiv sever, s-a raportat o scădere a IGF-I liber din ser, în vreme ce IGFBP-1 a atins nivele ridicate (Henning și alții, 2013).

Aceste date contrastează cu experimentele noastre asupra șobolanilor în vârstă supuși restricționării calorice, care au arătat o creștere a nivelurilor IGF-1 în prima săptămână după atacul cerebral. Oricum, luând în considerare luarea în greutate și recuperarea comportamentală a șobolanilor CR în vârstă, putem afirma că rezultatele noastre confirmă descoperirile unor studii epidemiologice care au notat relația inversă dintre nivelurile de IGF-I din plasmă și riscul de atac cerebral. Aceeași tendință a fost observată între IGF-1 din plasmă și recuperarea clinică și evoluția după atac. Mai specific, subiecții cu niveluri scăzute de IGF-I plasmatic prezintă un risc mai mare de atac cerebral și au o prognoză mai proastă după atac

decât pacienții cu IGF-1 plasmatic ridicat (Bondanelli și alții, 2006; Aberg și alții, 2011; Denti și alții, 2004).

S-a sugerat de asemeni că la pacienții cu atac ischemic, IGF-1 circulant reprezintă un marker al performanței funcționale și al evoluției (Bondanelli și alții, 2006). Aceste concluzii au fost confirmate ulterior de Aberg și alții (2011). Aceștia sugerează că în timpul neuro-reabilitării după atacul cerebral, un nivel ridicat de IGF-1 seric se corelează cu recuperarea funcțiilor pe termen lung (Aberg și alții, 2011). Într-adevăr, atât atacul hemoragic cât și cel ischemic sunt asociate cu concentrații scăzute ale IGF-1 și IGFBP-3 serice, deficite în performanța neuromusculară și atrofie musculară selectivă (Silva-Couto și alții, 2014).

Ulterior evenimentului ischemic acut, IGF-1 traversează bariera sânge-creier întreruptă și poate induce o diferențiere a celulelor neurale in vitro, incluzând neuroni, astrocite, oligodendrocite și celule endoteliale in vitro și modele animale ale unor leziuni cerebrale traumatiche, exercitându-și astfel efectele neuroprotectoare (Mangiola și alții, 2015). În paralel, proteina-3 care leagă factorul de creștere de tip insulenic (IGFBP-3) modulează biodisponibilitatea, transportarea și localizarea factorului de creștere de tip insulenic 1 (IGF-1), la modelele animale de atac cerebral, mai ales în cazul administrării intranazale (Liu XF și alții, 2001). La modelul nostru, șobolanii CR aveau niveluri semnificativ crescute ale IGF1 în prima săptămână după atac, care au coincis cu o recuperare accelerată a greutatei corporale; nivelul IGF-1 a fost menținut în continuare în ziua a 14-a prin creșterea nivelurilor de insulină serică. Acest cadru ar putea fi similar cu ischemia hipoxică perinatală, care crește expresia IGFBP3 endotelial vascular cerebral. IGFBP-3 modulează soarta celulei printr-o interacțiune complexă dintre micro-ambientele celulare și prezența partenerilor de legare ai IGFBP-3 celular și ai receptorilor factorilor de creștere. Oricum, un nivel crescut (cu 100%) al IGFBP3 seric la animalele CR (Olivo-Marston și alții, 2014) ar putea explica expresia genetică ridicată a IGFBP3 în zona perilezională a animalelor CR. Într-adevăr, studii recente efectuate la un an după un atac ischemic acut au indicat faptul că IGFBP3 ar putea reprezenta un marker pentru evoluția funcțională și recuperare (Ebinger și alții, 2015).

În plus, am observat un număr de gene care au fost suprastimulate în cortexul perilezional al șobolanilor CR în vârstă, în comparație cu aria perilezională a șobolanilor în vârstă hrăniți *ad libitum*, inclusiv gene cu rol în metabolismul glicogenului, semnalarea IGF, apoptoză, arteriogenează și hipoxie. Gene substimulate în cortexul perilezional al șobolanilor CR în

vârstă, în comparație cu aria perilezională a șobolanilor în vârstă hrăniți *ad libitum*, includ gene implicate în homeostaza energetică (*Ins1*, *Igf1r*, *Mapk10*), apoptoză (*Camk2g*), vasculogeneză (*Ppp2cb*) sau integritate tisulară (*Pmds6*, *Psmc4*, *Pmc3*, *Psb5*).

În concluzie, studiul nostru arată că la șobolanii Sprague-Dawley în vârstă, supuși unei restricționări calorice, recuperarea comportamentală este îmbunătățită în comparație cu cea a șobolanilor supraponderali hrăniți *ad libitum*. În acest cadru, se observă o creștere timpurie în greutate și o recuperare comportamentală îmbunătățită care necesită abilități senzorio-motorii complexe, cum ar fi activitățile de pe puntea rotitoare și de pe planul înclinat, sau sensibilitatea cutanată și integrarea senzorio-motorie sau memoria spațială care au fost asociate cu niveluri crescute ale glucozei serice, insulinei și IGF1 și cu schimbări specifice în expresia genelor incluzând substimularea genelor cu rol în sistemul de degradare al proteazomului ubiquitin (*Pmds6*, *Psmc4*, *Pmc3*, *Psb5*), vasculogeneză îmbunătățită (*Ppp2cb*), neuroprotecție (*Mapk10*) și apoptoză redusă (*CaMkIIC*). Toate aceste schimbări au fost înregistrate în paralel cu o expresie crescută a genelor care sunt neuroprotective (*Igf3*), susțin angiogeneza (*Igf2*, *Mapkapk2*) și permit o creștere a energiei disponibile (*Prkaa/Prka1*). Oricum, sunt necesare mai multe studii experimentale, pentru a înțelege pe deplin inter-relațiile active și complexe din acest cadru patologic.