

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GIULIA STRAPAZZON

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E GENOTÓXICOS EM
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA CAFETERIA E EXERCÍCIO FÍSICO
VOLUNTÁRIO**

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2019

GIULIA STRAPAZZON

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E GENOTÓXICOS EM
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA CAFETERIA E EXERCÍCIO FÍSICO
VOLUNTÁRIO**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Vanessa Moraes de Andrade.

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre Pastoris Müller.

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2019.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S897a Strapazzon, Giulia.

Avaliação de parâmetros bioquímicos e genotóxicos em camundongos submetidos à dieta cafeteria e exercício físico voluntário / Giulia Strapazzon. - 2019.

71 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2019.

Orientação: Vanessa Moraes de Andrade.

Coorientação: Alexandre Pastoris Müller.

1. Obesidade - Tratamento. 2. Obesidade - Exercícios terapêuticos. 3. Dieta de cafeteria. 4. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos. 5.

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101


Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE Mestrado em Ciências da Saúde – Nº 333

Com início às 10h (dez horas) do dia dezesseis do mês de dezembro de 2019 (dois mil e dezenove), realizou-se, no Mini Auditório do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), o seminário formal de apresentação dos resultados da dissertação de Mestrado de **Giulia Strapazzon** sob a orientação da **Profa. Dra. Vanessa Moraes de Andrade**, intitulada “**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E GENOTÓXICOS EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA CAFETERIA E EXERCÍCIO FÍSICO VOLUNTÁRIO**”. A dissertação foi examinada por uma banca examinadora constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada, Prof. Dr. Paulo César Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada e Profa Dra. Gislaine Tezza Rezin (Universidade Federal de Santa Catarina - UNISUL) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: **APROVADA**, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 11:30h (onze horas e trinta minutos), dos quais eu, Fernanda Nunes Peruchi, Assistente Administrativo do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC lavrei a presente ata, que assino juntamente com o Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol, Coordenador do Programa. Criciúma, 16h (dezesseis) de dezembro de 2019 (dois mil e dezenove).


Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol
Coordenador PPGCS
Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol
Coordenador do PPGCS


Fernanda Nunes Peruchi
Assistente Administrativo

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo a Resolução nº 07/2015/Colegiado de Coordenação do PPGCS e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Biomedicina Translacional do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) na Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Dedico este trabalho a duas pessoas: minha mamãe, há 24 anos ela vem abrindo mão da sua vida para fazer a minha. E a Lu, pois quem anda alado de um anjo, percorre caminhos longínquos.

AGRADECIMENTOS

Seria egoísmo da minha parte se eu não iniciasse estes agradecimentos sendo grata ao ser em que todas às vezes que eu fraquejei, Ele, na sua infinita bondade, me carregou nos braços, me dando forças para que eu pudesse seguir em frente, Deus, muito obrigada!

Aos meus familiares, desde sempre foram minha base e meu porto seguro. Mamãe, pai, mana, Heleninha e Filipe, obrigada por todos os votos de confiança depositados em mim; obrigada por todos os puxões de orelha e obrigada por me colocarem no caminho do bem, fazendo com que eu jamais desistisse de concretizar todos os meus sonhos. Às vezes, em um trabalho deste porte, a ajuda emocional vale mais do que a intelectual e vocês foram os responsáveis por isso! Durante os meus 20 anos de caminhada estudantil eu pensei em desistir inúmeras vezes, mas sempre por vocês eu continuei persistindo, principalmente por você, mamãe, você sempre foi e sempre será a pessoa em que eu sempre darei e mostrarei o meu melhor, por tudo o que fazes e por tudo o que és para mim.

A minha rainha inspiradora Lu, uma vez eu acreditava que você era uma amiga em forma de anjo, porém eu já tenho a certeza que Deus te colocou na minha vida como um anjo em forma de amiga. Nos **84 mil** momentos em que eu jogava tudo para o ar, você ia lá e recolhia tudo para mim, colocava tudo nos eixos e me tranquilizava, você foi a maior responsável pela concretização deste trabalho, palavras jamais descreveriam o sentimento infinito de gratidão que eu sinto por ti. Muito obrigada por acreditar em mim quando eu já não acreditava mais e acima de tudo obrigada por não desistir de mim e por não me deixar desistir.

A minha Anjinha, o quão importante você foi durante estes últimos dezesseis meses! Posso afirmar com todas as letras que você esteve ao meu lado em todos os momentos possíveis e imagináveis deste trabalho, você segurou minha mão desde o início inesperado do projeto; cobrindo as minhas viagens; até o final, ou melhor até agora, mas o que eu mais quero te agradecer é por você ter sido uma peça gigante deste quebra cabeça, você além de me dar um suporte prático me acalentou em diversos momentos, seu ombro amigo e seus puxões de orelha foram tão importantes (se não mais) do que toda a ajuda que você me deu, anjinha, muitíssimo obrigada!

A Juzinha, você não faz ideia do quanto fostes importante para mim durante este percurso, a minha distração foi você que por muitas vezes conseguiu me tirar da pressão que eu me encontrava e me levar para um mundo em que tudo ficava bem, tudo ficava divertido, sem preocupações e sem prazos, te agradeço de mais por ter representado esse papel tão especial!

Ao Deivid, você chegou no final desta jornada mas acompanhou bem de perto toda a loucura que foi essa reta final. Sou extremamente grata por toda confiança que você depositou em mim, por toda a compreensão que tiveste em diversos momentos e por todo apoio que me deste. Obrigada por representar essa figura na qual eu me espelhei inúmeras vezes na execução deste trabalho.

Ao seu Adão e a dona Iza, onde eu sempre encontrei um lar acolhedor e aconchegante, uma segunda família que me faz sentir em casa. Muito obrigada por sempre estenderem a mão quando eu precisei sem medir esforços e carinho

A Adri e a Marina, obrigada por tanta paciência, meninas! Obrigada por todos os conhecimentos repassados a mim, por toda ajuda prática, por entenderem o quão difíceis eram os meus horários e por terem estendido a mão em diversos momentos.

A minha orientadora Vanessa, há seis anos ela aceitou uma adolescente ainda aluna do ensino médio em seu laboratório e acompanhou até aqui, até o término deste mestrado. Vanessa, obrigada pelo seu olhar crítico e minucioso sob este trabalho e obrigada também pela confiança depositada em mim há seis anos, você me proporcionou uma oportunidade única de expandir meus conhecimentos na área que hoje sou encantada.

A todas I.C. do Biomedicina Translacional que me ajudaram incansavelmente: Amanda, Bruna, Camila, Catharina, Isadora Monteiro, Larissa, Lígia e Natália Martins. Meninas, obrigada por nunca negarem os meus pedidos de ajuda, obrigada por me aguentarem nas inúmeras vezes em que eu surtava e acima de tudo obrigada por me ajudarem a concretizar este sonho!

Ao me co-orientador Alexandre, desde o início quando eu resolvi estudar exercício físico, por ser uma área que me chama muito atenção, ele esteve ao meu lado me auxiliando e me ensinando o básico do básico, obrigada por nunca me dizer “não” quando eu te pedia socorro, você foi extremamente essencial neste trajeto. Agradeço também por me emprestar as suas alunas de I.C. Isadora Marques, Natália Tramontin e Mariana.

A Thaís Fernandes, te agradeço por ter estendido a sua mão quando eu necessitei, mesmo você não sendo mais aluna do PPGCS.

Ao professor Paulo Lock agradeço por ceder seus alunos de I.C. e mestrado, Rubya e Gustavo, para a execução de uma técnica que eu não domino.

Ao professor Ricardo Andrez, agradeço por aceitar sem pestanejar o meu convite para a relatoria deste estudo.

Novamente ao professor Paulo e juntamente com a professora Gislaine Tezza Rezin agradeço por aceitarem o convite de participar da minha banca.

Ao Heron e Deivid, a vocês eu posso literalmente dizer que senão fosse a ajuda de vocês esse trabalho seria apenas um projeto escrito no papel. Obrigada pela ajuda técnica e acima de tudo obrigada pelas conversas e risadas jogadas fora, em diversos momentos vocês foram um grande suporte e uma grande válvula de escape.

A toda família MagraSS Araranguá: Alice, Andreia, Beatriz, Caroline, Caterine, Daiane, Dara, Jaqueline, Larissa Della Vechia, Larissa Domingos, Maria Laura, Natalia e Silvana. Agradeço todas vocês pela convivência incrível, pelo aprendizado nestes últimos meses, pela experiência única que vocês me proporcionam dia a dia e é claro agradeço pelas amizades concretizadas neste meio. Acima de tudo, sou grata a três pessoas super especiais: Aline, Maria de Fátima e Max, vocês três juntos formam um time imbatível de líderes! Obrigada pela oportunidade a mim conferida de poder participar dessa empresa fantástica que é a MagraSS; obrigada por compreenderem sem cobranças as minhas faltas e trocas de horário durante todo o ano de 2019 e obrigada por me ajudarem a planejar e realizar diversos sonhos.

**“Foi o tempo que dedicastes à tua
rosa que a fez tão importante. ”**

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

A obesidade é uma patologia complexa, multifatorial e amplamente evitável, causada principalmente pelo alto consumo de alimentos industrializados, ausência da prática de atividade física, disfunções metabólicas, influências psicossociais e fatores ambientais. O consumo frequente de fast foods, associado a hábitos sedentários, estão altamente relacionados com o aumento da obesidade em todo mundo, sendo esta acompanhada de diversas complicações. Como citado, a inatividade física é um fator que contribui para o aumento da obesidade, no entanto, é modificável, uma vez que a prática regular ajuda a evitar doenças cardiovasculares e uma variedade cada vez maior de outras doenças crônicas, incluindo diabetes mellitus, câncer, hipertensão, doenças ósseas e articulares e depressão. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da prática de exercício físico voluntário (EFV) sobre parâmetros bioquímicos e genotóxicos em camundongos alimentados com dieta cafeteria (DC). Foram utilizados 60 camundongos machos Swiss com 30 dias de idade, divididos nos seguintes grupos por 18 semanas: grupo DP (n = 10): dieta padrão (DP); grupo DC (n = 30) (hipercalórica e hiperglicídica): consumiram DC por 14 semanas; grupo DP + EFV (n = 10): DP e EFV; grupo DC + EFV (n = 10): DC e EFV. Ao completarem 14 semanas de tratamento o grupo DC foi subdividido em três grupos com n = 10/ grupo: grupo DC – seguiu consumindo DC; grupo DC | DP + EFV – interrompeu o consumo de DC e iniciou o consumo de DP concomitante a prática de EFV; grupo DC | DP interrompeu o consumo de DC e iniciou o consumo de DP, essa subdivisão durou por mais 4 semanas, totalizando 18 semanas. Estes animais foram submetidos à eutanásia aos cinco meses de idade para a realização das avaliações bioquímicas e genéticas. Através dos resultados encontrados pode-se aferir que a DC alterou a glicemia de jejum dos animais, bem como induziu a resistência insulínica, desencadeou danos genotóxicos e mutagênicos, porém o EFV foi capaz de reverter estes danos desencadeados por ela. Portanto, os resultados demonstram que o EFV apresentou efeitos antígenotóxicos, antimutagênicos, diminuiu índice de adiposidade e melhorou parâmetros bioquímicos frente a este modelo de indução de obesidade.

Palavras-chave: Dieta cafeteria; obesidade; genotoxicidade; mutagenicidade; exercício físico voluntário.

ABSTRACT

Obesity is a complex, multifactorial and widely preventable pathology, mainly caused by high consumption of processed foods, lack of physical activity, metabolic dysfunctions, psychosocial influences and environmental factors. Frequent consumption of fast foods, associated with sedentary habits, are highly related to the increase in obesity worldwide, which is accompanied by several complications. Physical inactivity is a contributing factor to increase in obesity, however this pathology can be reverted by physical regular exercise helping prevent cardiovascular disease and variety of other chronic diseases including diabetes mellitus, cancer, hypertension, bone and joint disease and depression. In this context, the aim of this study was to evaluate the effect of physical voluntary exercise (PVE) on biochemical and genotoxic parameters in mice feeding by cafeteria-diet (CD) and to verify if PVE is capable to revert the complications caused by CD. Sixty 30-day-old Swiss male mice were used, divided into the following groups during 18 weeks: SD group (n = 10): feeding with standard diet (SD); CD group (n = 30): feeding with CD for 14 weeks; SD + PVE group (n = 10): feeding with SD and practiced PVE; CD + PVE group (n = 10): feeding with CD and practiced PVE. At 14 weeks of treatment, the CD group was subdivided into three groups with 10 animals per group: CD group - continued feeding with CD; CD group | SD + PVE - interrupted the consumption of CD and started the consumption of SD concomitantly with the practice of PVE; CD group | SD stopped the consumption of CD and started the consumption of SD, this subdivision occurred in the last 4 weeks, totaling 18 weeks. CD is hyperglycemic and hypercaloric and that the PVE was performed through running wheels coupled to the animals boxes. These animals were euthanized at the end of experiment for biochemical and genetic evaluations. Through the results it can be verified that the CD altered the fasting glucose of the animals, as well as induced the insulin resistance, triggered genotoxic and mutagenic damages, but the PVE could reverse the damages caused by CD. The results demonstrate that PVE showed antigenotoxic, antimutagenic effects, decrease adipocyte index and improve biochemical parameters against this model of diet-induced obesity.

Keywords: Cafeteria diet; obesity; genotoxicity; mutagenicity; physical voluntary exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Desenho experimental.	29
Figura 2: Linha do tempo.	30
Figura 3: Roda de corrida voluntária.....	32
Figura 4: Teste de Tolerância à Insulina.	42
Figura 5: Área sob a curva (AUC) do Teste de Tolerância à Insulina.	43
Figura 6: Índice de adiposidade	45
Figura 7: <i>Tail intensity</i> (%) de células de sangue periférico.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Cardápio semanal dos animais.	31
Tabela 2: Composição nutricional das dietas.	31
Tabela 3: Consumo alimentar, consumo energético, eficiência energética e peso corporal dos animais.	37
Tabela 4: Glicemia de jejum	40
Tabela 5: Teste de Micronúcleos.	46

LISTA DE ABREVIATURAS

8-OHdG - 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (do inglês *8-Oxo-2'-deoxyguanosine*)

ATP - Trifosfato de Adenosina

CEA - Centro de Experimentação Animal

DC – Dieta Cafeteria

DM – Diabetes Mellitus

DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)

DP – Dieta Padrão

EC - Ensaio Cometa

EFV – Exercício Físico Voluntário

ENC - Eritrócitos normocromáticos

ENCMn - Eritrócitos normocromáticos micronucleados

EPC - Eritrócitos policromáticos

EPCMn - Eritrócitos policromáticos micronucleados

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

GPx – Glutathione peroxidase (do inglês *Glutathione Peroxidase*)

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês *High Density Lipoprotein*)

HF – *High Fat*

IMC – Índice de Massa Corporal

ITT – Teste de Tolerância à Insulina

MN – Micronúcleos

OGG1 - DNA glicosilase de 8-oxoguanina (do inglês *8-oxoguanine DNA glycosylase*)

SOD – Superóxido Dismutase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBESIDADE	17
1.1.1 Modelo de indução de obesidade: Dieta Cafeteria	18
1.2 OBESIDADE E GENOTOXICIDADE	20
1.3 EXERCÍCIO FÍSICO	22
1.3.1 Modelo animal de exercício físico: Exercício Físico Voluntário	25
1.4 JUSTIFICATIVA	26
2 OBJETIVOS	27
2.1 Objetivo Geral	27
2.2 Objetivos Específicos.....	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1 CRITÉRIOS ÉTICOS	28
3.1.1 Comissão de Ética no Uso de Animais	28
3.2 DESENHO EXPERIMENTAL.....	28
3.3 DIETA CAFETERIA	30
3.4 TRATAMENTO: EXERCÍCIO FÍSICO VOLUNTÁRIO.....	31
3.5 CONSUMO ALIMENTAR, GANHO DE PESO CORPORAL DOS ANIMAIS E EFICIÊNCIA ENERGÉTICA.....	32
3.6 GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	32
3.7 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE CORPORAL	33
3.8 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE	33
3.8.1 Ensaio Cometa	33
3.8.2 Teste de Micronúcleos	34
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
4 RESULTADOS	36
4.1 CONSUMO ALIMENTAR, CONSUMO ENERGÉTICO, EFICIÊNCIA ENERGÉTICA E PESO CORPORAL DOS ANIMAIS	36
4.2 GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	39
4.3 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE CORPORAL	43
4.4 ENSAIO COMETA	45
4.5 TESTE DE MICRONÚCLEOS	46
5 DISCUSSÃO	47
6 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
APÊNDICE A – CARTA DE ACEITE DO CEUA	71

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE

A prevalência de sobrepeso e obesidade está aumentando em todas as faixas etárias, tanto nos países em desenvolvimento quanto nos desenvolvidos. A Organização Mundial da Saúde – OMS - (2018) relata que grande parte da população mundial vive em países onde o excesso de peso e a obesidade causam mais mortes do que o baixo peso. Segundo o Ministério da Saúde - VIGITEL (2019), a obesidade está presente em 19,8% dos brasileiros e números ainda mais alarmantes são vistos em indivíduos com sobrepeso, mais da metade da população brasileira, 55,7%, apresentava sobrepeso no ano de 2018, sendo que destes 57,8% eram homens e 53,9% mulheres.

A obesidade é uma patologia complexa, multifatorial e amplamente evitável, causada principalmente pelo alto consumo de alimentos industrializados, ausência da prática de atividade física, disfunções metabólicas, influências psicossociais e fatores ambientais (Hu, 2013). Além dos fatores socioambientais, as características individuais, tais como sexo e idade, também são influenciadores negativos do desenvolvimento da obesidade (Zhang e Wang, 2012). A obesidade é também vista como resultado de um desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e as calorias gastas, criando um excedente de energia e um estado de balanço energético positivo, que resulta em excesso de peso corporal (Hruby e Hu, 2015). Este quadro é altamente modificável, uma vez que a prática de atividade física associada à melhora na qualidade da ingestão de alimentos, contribuiriam de forma significativa para reverter esta patologia (Ishi, 2005). Dessa forma a disponibilidade, qualidade, quantidade e fonte de alimentos consumidos (Zeeni et al., 2015), associado a um aumento na inatividade física decorrente da urbanização (OMS, 2018), são fatores desencadeantes da obesidade.

Os alimentos mais amplamente consumidos na atualidade são os conhecidos *fast food* (Jaworowska et al., 2013), que são ricos em açúcares e gorduras (Drewnowski e Darmon, 2005). O consumo frequente de uma dieta rica destes alimentos, associado a hábitos sedentários, estão altamente relacionados com aumento do risco de síndrome metabólica, sendo esta, composta por um conjunto de fatores de risco, como obesidade, resistência à insulina e dislipidemia (aumento do

colesterol total e LDL e diminuição de HDL) que juntos culminam no aumento do risco de diabetes mellitus tipo 2 e doença cardiovascular (Duffey et al., 2009; Krishnan et al., 2010; O'Neill e O'Driscoll, 2014).

1.1.1 Modelo de indução de obesidade: Dieta Cafeteria

A dieta cafeteria (DC) é um modelo animal amplamente utilizado para estudar obesidade. Neste modelo, é permitido aos animais terem livre acesso à ração padrão, a água e a alimentos altamente palatáveis e industrializados. Esta dieta promove a hiperfagia voluntária que resulta em ganho de peso rápido, aumento do tecido adiposo, intolerância à glicose, resistência à insulina, hiperinsulinemia e respostas pró-inflamatórias (Sampey et al., 2011).

A alta palatabilidade da DC influencia negativamente os mecanismos de saciedade e do sistema de recompensa (Macedo et al., 2016), diminuindo o controle natural da ingestão de energia e induzindo a hiperfagia e, portanto, exacerbando o consumo de alimentos, mimetizando os mecanismos que levam à obesidade em humanos sob a chamada dieta ocidental (Saper et al., 2002; Estadella et al., 2004).

Com o intuito de agregar palatibilidade à DC, a indústria alimentícia emprega aos alimentos diferentes aditivos alimentares, tais como conservantes e corantes (Sasaki et al., 2002; Frank et al., 2003; Collison et al., 2013). Classifica-se como aditivo alimentar aquele componente acrescentado aos alimentos sem a finalidade de nutri-lo, apenas como modificador das características físicas, químicas, biológicas e/ou sensoriais durante os processos de fabricação, embalagem, transporte e durabilidade (SVS/MS, 1997).

O emprego de aditivos químicos por parte da indústria alimentícia é um assunto um tanto quanto problemático, principalmente pelo fato de que em âmbito nacional, a legislação brasileira permite que sejam adicionados à diversas classes alimentares onze tipos de corantes e conservantes (FIB, 2009). Muitos estudos comprovam as inúmeras consequências desencadeadas por estes aditivos alimentares, entre elas, alterações comportamentais, alergias desenvolvidas através da alta toxicidade destes componentes e, em longo prazo, carcinogenicidade (Carvalho, 2005; Polônio e Peres, 2009; El-Wahab e Moram, 2013).

Estudos prévios têm mostrado que roedores alimentados com DC, rica em açúcar, sal, corante, conservantes e gorduras, desenvolvem obesidade e síndrome

metabólica, resultando em uma baixa expectativa de vida (Kant, 2000; Shafat et al., 2009). No estudo de Shafat et al. (2009) os animais foram alimentados com uma DC hiperlipídica e hiperglicídica durante 43 dias e, com isso, pode-se observar que os animais do grupo DC tiveram um maior ganho de peso em relação ao grupo alimentado com dieta padrão (DP), devido a dieta densa em energia que estimula o excesso de ingestão energética.

Em um estudo de Sampey et al. (2011), onde ratos Wistar machos foram alimentados com DC, com dieta *High Fat* – HF - (dieta à base de banha de porco) ou com ração padrão por 15 semanas, observou-se que os animais que consumiram DC e HF tiveram aumento dos níveis de adiposidade e esteatose hepática, porém, os animais pertencentes ao grupo DC além de desencadearem estas comorbidades desenvolveram também hiperinsulinemia, hiperglicemia, intolerância à glicose e os níveis de inflamação em gordura branca, gordura marrom e fígado foram maiores quando comparados aos grupos HF e controle.

No estudo de Soares et al. (2017), avaliou-se o ganho de peso, tecido adiposo, colesterol total, glicose e triglicérides em camundongos Swiss fêmeas, alimentadas durante 8 semanas com DC ou dieta à base de ração padrão. Observaram que o grupo DC apresentou obesidade quando comparado com o grupo que recebeu apenas a ração padrão. Além disso, esse quadro de obesidade apresentado no estudo está relacionado ao aumento do estresse oxidativo, que pode também estar envolvido com o acúmulo de metabólitos tóxicos que levam à produção excessiva de radicais livres e a depleção das defesas antioxidantes.

Carillon et al. (2013) utilizaram hamsters para demonstrar os níveis elevados de estresse oxidativo no fígado. Neste estudo, durante 15 semanas, hamsters ingeriram DC ou ração padrão e os níveis de estresse oxidativo no tecido hepático foi observado. Os resultados mostraram um aumento da produção de ânion superóxido, de produtos de oxidação hepática e da enzima antioxidante superóxido dismutase cobre e zinco (Cu-Zn-SOD) nos animais que consumiram DC durante o tempo de experimentação.

1.2 OBESIDADE E GENOTOXICIDADE

Existe uma estreita associação entre obesidade (Apelt et al., 2009; Tatsch et al., 2012), síndrome metabólica (Tomasello et al., 2011) e estresse oxidativo, sendo este último causado pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) e diminuição das defesas antioxidantes, levando, dessa forma, a danos nas macromoléculas, tais como ao DNA (Apelt et al., 2009; Tatsch et al., 2012).

Leffa (2013) avaliou o estresse oxidativo induzido através de uma DC, em camundongos Swiss, por meio das medidas de sulfidrilas totais e níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico nos tecidos de rim, fígado e cérebro destes animais. Um aumento significativo do dano oxidativo proteico pode ser observado nos animais que consumiram a DC quando comparados aos que consumiram DP, além disso, ocorreu também um aumento significativo da peroxidação lipídica destes mesmos animais nos três órgãos analisados.

No estudo de Furukawa et al. (2004), realizado com 140 indivíduos obesos ou com sobrepeso, homens e mulheres, com idade entre 40 e 66 anos, foram avaliados os níveis de peroxidação lipídica no plasma destes participantes e pode-se constatar níveis elevados deste parâmetro.

Em um estudo de Elwakkad et al. (2011), que avaliou a relação entre marcadores de obesidade (percentual de gordura corporal e Índice de Massa Corporal - IMC) e a 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG), um biomarcador de dano oxidativo ao DNA, em 103 adolescentes com idade entre 13 a 18 anos, constatou-se uma correlação positiva entre o IMC e a concentração sérica de 8-OHdG, superóxido dismutase (SOD) e a glutatona peroxidase (GPx).

Em relação aos danos causados pela obesidade nas macromoléculas, Gandhi e Kaur (2012) avaliaram os níveis de dano ao DNA, através do Ensaio Cometa (EC) em indivíduos jovens obesos e saudáveis, em sua maioria estudantes com prática de atividade física leve ou moderada e estilo de vida sedentário. Para tanto, foram incluídos na pesquisa 50 pessoas saudáveis e com diagnóstico de obesidade. Como resultado, observaram que os indivíduos obesos apresentaram aumento significativo de danos no DNA em comparação com os controles saudáveis. Além disso, uma meta-análise de trabalhos em animais, relatou associação entre o excesso de peso e a instabilidade genômica em diferentes órgãos, tais como sangue, fígado, rim e cérebro, avaliados também através do EC (Setayesh et al., 2018).

Demirbag et al. (2006) também avaliaram danos no DNA de 65 indivíduos com síndrome metabólica, para determinar qual era o nível basal de danos no DNA de indivíduos portadores desta doença. Ao final do estudo observaram que o nível de danos no DNA foi maior no grupo com síndrome metabólica, associado com maior índice de estresse oxidativo, quando comparado com o grupo controle. Além disso, observaram diferença entre a pressão sanguínea sistólica e a glicemia de jejum do grupo com síndrome metabólica em relação ao grupo controle.

Leffa et al. (2014) avaliaram a genotoxicidade de uma DC rica em alimentos industrializados, tais como refrigerantes, bolachas e salgadinhos, em roedores. Ao final do experimento observaram ação genotóxica da dieta, uma vez que os níveis de danos ao DNA foram significativamente maiores em sangue, fígado, rim e cérebro destes animais em relação ao grupo alimentado com ração padrão. Além disso, através do Teste de Micronúcleos (MN) também foram observados danos elevados no grupo alimentado com DC durante 17 semanas.

Diversos fatores que podem ser elencados como comorbidades decorrentes da obesidade, podem gerar danos a molécula de DNA, tais como: estresse oxidativo, inflamação (Chrysohoou et al., 2007), baixa defesa antioxidante e a geração de ERO pós prandial (Demirbag et al., 2006; Patel et al., 2007).

Além do exposto, em indivíduos obesos a suscetibilidade ao estresse oxidativo é ainda maior, devido a depleção de fontes antioxidantes, tais como a SOD, GPx, catalase (CAT), vitamina A, vitamina E, vitamina C e β -caroteno (Amirkhizi et al., 2007).

De uma forma geral, o acúmulo excessivo de gordura em pacientes obesos leva a um aumento patológico dos níveis séricos de ácidos graxos livres que, por sua vez, prejudicam o metabolismo da glicose (Rzheshevsky, 2013) e favorecem o acúmulo hepático, muscular e adiposo dos substratos energéticos (gorduras e glicose) (Tereshin, 2007).

Estas alterações citadas acima, levam a uma grande síntese de radicais livres, gerando estresse oxidativo, lesões no DNA mitocondrial (Duvnjak et al., 2007) e lipotoxicidade. Além disso, o dano celular desencadeia alta produção de citocinas, como o TNF- α , que gera mais ERO nos tecidos aumentando a taxa de peroxidação lipídica (Khan et al., 2006).

A forma pelo qual a obesidade leva a produção de radicais livres é através da presença excessiva de tecido adiposo, pois este é considerado uma fonte de

citocinas inflamatórias, tais como TNF- α , IL-1 e IL-6. Essas citocinas são potentes estimuladores para a produção de ERO e nitrogênio por macrófagos e monócitos (Hartmann et al., 1998).

1.3 EXERCÍCIO FÍSICO

A redução da atividade física e escolhas de dietas não saudáveis são fatores predominantes que contribuem para a crise global da obesidade (Lenard e Berthoud, 2008; Berthoud, 2012). Diante disso, níveis adequados de atividade física ou treinamento físico devem ser parte integrante de qualquer plano de tratamento para indivíduos obesos, independentemente das metas de emagrecimento (Haskell et al., 2007).

As vantagens inerentes do exercício físico resultam de um aumento no débito cardíaco e um aumento da capacidade inata dos músculos de extrair e utilizar o oxigênio do sangue (Patel et al., 2017), uma vez que a inatividade física é um fator de risco modificável, para evitar doenças cardiovasculares e uma variedade cada vez maior de outras doenças crônicas, incluindo diabetes mellitus, câncer, obesidade, hipertensão, doenças ósseas e articulares e depressão (Taylor et al., 2004). Os benefícios que o exercício físico traz podem ser confirmados por um trabalho de meta-análise, onde pode-se observar uma diminuição no risco de doenças cardiovasculares e incidência de diabetes mellitus com o aumento dos níveis de atividades físicas (Wahid et al., 2016).

Existem dois tipos de exercícios físicos: aeróbicos e anaeróbicos (Patel et al., 2017). O exercício aeróbico, como qualquer atividade que utiliza grandes grupos musculares, pode ser realizado de forma contínua e é de natureza rítmica (Wahid et al., 2016). Como o nome indica, grupos musculares ativados por esse tipo de exercício dependem do metabolismo aeróbico para extrair energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) a partir de aminoácidos, carboidratos e ácidos graxos (Patel et al., 2017). Exemplos de exercícios aeróbicos incluem ciclismo, dança, caminhada, corrida de baixa intensidade, corrida de longa distância e natação (ACSM, 2013).

O exercício anaeróbico é definido como uma atividade física intensa de curta duração, alimentada pelas fontes de energia dentro dos músculos em contração e com pouco uso de oxigênio como fonte de energia (ACSM, 2013), dessa forma, as células formam ATP via glicólise e fermentação. Este processo produz

significativamente menos ATP do que o exercício aeróbico e leva ao acúmulo de ácido láctico. Exercícios tipicamente considerados como anaeróbicos consistem em aqueles que necessitam a contração rápida dos músculos e incluem corrida de alta intensidade, treinamento intervalado de alta intensidade, levantamento de força, entre outros (ACSM, 2013).

Estudos em modelos animais tem sugerido que a atividade física regular pode melhorar a função cardiovascular (Hamburg et al., 2007; Park et al., 2012), metabolismo da glicose (Boersma et al., 2012, Cadeddu et al., 2014), alterações de humor (Cunha et al., 2013; Wegner et al., 2014) e conduzir a manutenção de perda de peso (Anderson et al., 2001; Swift et al., 2014).

Observou-se em estudos com modelos experimentais de exercício aeróbico, que a esteira e natação atenuou o ganho de peso em animais alimentados com uma dieta rica em gordura (Wang et al., 2008; Medeiros et al., 2011), reduzindo a ingestão de alimentos em comparação com animais obesos que não realizam exercícios (Wang et al., 2008). Já no estudo de Nakamoto et al. (2007), foram avaliados ratos com 21 meses de idade submetidos a dois meses de corrida regular em esteira, com isso puderam evidenciar uma diminuição significativa no conteúdo de 8-OHdG, no DNA nuclear e mitocondrial do fígado, que foi acompanhado por uma regulação positiva da atividade da DNA glicosilase de 8-oxoguanina (OGG1) no núcleo.

Vilela et al. (2016) realizaram um estudo com ratos Wistar envelhecidos, onde os animais foram submetidos a um treinamento aeróbico em esteira ou de força (esteira inclinada a 85°) por 50 min 3 a 4 dias/semana durante 8 semanas. Tanto o treinamento aeróbico quanto o de força melhoraram a cognição, além disso, também foi observado uma diminuição nos danos ao DNA após o treinamento aeróbico.

A atividade física, de uma forma geral, pode alterar os padrões de utilização do substrato e melhorar a sensibilidade à insulina em todo o corpo, melhorando o perfil metabólico geral (Hamburg et al., 2007; Park et al., 2012).

Resultados promissores também podem ser observados em estudos realizados em humanos, como no trabalho de Soares e colaboradores (2015), incluíram em sua pesquisa 31 indivíduos submetidos a 16 semanas de exercício físico combinado (exercício aeróbico, de força e alongamento) e 26 indivíduos que foram orientados a não praticar nenhum tipo de atividade física. No grupo experimental de atividade física, observou-se diminuição significativa da circunferência abdominal,

sem alterações significativas no peso e no IMC, além disso um aumento significativo na capacidade antioxidante total foi observado e uma diminuição significativa em relação aos danos no DNA, sítio sensível a formamidopirimidina DNA-glicosilase (dano oxidativo ao DNA) e níveis de MDA, sem nenhuma mudança significativa na atividade de reparo do DNA, avaliado através da enzima OGG1.

Um estudo realizado por Dinçer et al. (2016), com 31 pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 submetidos a treinamento físico por 90 minutos ao dia, 3 dias por semana, durante 12 semanas, mostrou que o treinamento aeróbico foi eficaz em diminuir os níveis de hemoglobina glicada e glicemia de jejum, triglicerídeos e lipoproteína de muito baixa densidade, sendo que a lipoproteína de alta densidade (HDL) aumentou significativamente. Assim, os autores sugeriram que a deficiência no controle glicêmico, que desempenha o papel principal na patogênese do diabetes mellitus e suas complicações, seria atenuado em 12 semanas de um programa regular de exercícios, além disso, pode aumentar o *status* antioxidante de pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Estudos que combinam exercícios anaeróbicos e aeróbicos também foram realizados, onde pode-se observar que um estudo europeu composto por 16 indivíduos obesos foi capaz de mostrar o aumento dos benefícios de um treino aeróbico seguido de treinamento anaeróbico, em comparação com o treinamento aeróbico sozinho. Indivíduos que foram submetidos a treinamento básico com exercícios aeróbicos e anaeróbicos mostraram uma redução maior em ácidos graxos não esterificados. O mesmo grupo também foi relacionado por ter a maior redução no seu índice de massa corporal (Salvadori et al., 2014).

O exercício físico é um fator importante que pode levar ao aumento do estresse oxidativo e do dano oxidativo ao DNA, uma vez que um aumento acentuado no consumo de oxigênio durante o mesmo resulta em aumento na geração de ERO. No entanto, o efeito do dano oxidativo induzido pelo exercício é variável, dependendo de fatores como: tipo, modo, duração e intensidade do exercício (Bloomer, 2008). Uma única sessão de exercício induz estresse oxidativo e dano ao DNA, enquanto o exercício regular de intensidade moderada pode diminuí-los (Radak et al., 2008).

Estudo realizado com seis atletas saudáveis e bem treinados submetidos a uma competição de triatlo de curta distância (1,5 km de natação, 40 km de ciclismo e 10 km de corrida) observou que o pico de danos ao DNA, avaliados através do EC, foi no terceiro dia após a atividade física, sendo que este nível ficou semelhante ao

controle após o quinto dia, assim, pode-se observar que apesar do exercício causar danos ao material genético, este é reparado rapidamente (Hartmann et al., 1998).

O estresse causado pelo exercício físico regular pode ser responsável por várias modificações locais e sistêmicas que levam à adaptação do organismo. As principais hipóteses pelas quais o exercício físico pode atenuar os danos ao DNA são: diminuição da produção de ERO e/ou aumento da proteção antioxidante, embora os fatores de estilo de vida também tenham sido considerados moduladores importantes de danos no DNA (Soares et al., 2015).

Com o exposto, ressalta-se a importância da prática de exercício físico regular na prevenção do acúmulo de danos no DNA e distúrbios metabólicos associados à ingestão de dietas não saudáveis, incluindo resistência à insulina e obesidade, que levam à hiperglicemia, estado pró-inflamatório e pró-oxidante (Constantin-Teodosiu et al., 2013).

1.3.1 Modelo animal de exercício físico: Exercício Físico Voluntário

A roda de corrida voluntária é um modelo animal de exercício físico voluntário considerado o melhor para ser aplicado em estudos com animais, uma vez que outros modelos de exercícios experimentais em roedores, dependem de estímulos aversivos para forçar o movimento ativo, tais como a natação e a corrida, que não refletem o comportamento normal do roedor. Por outro lado, a corrida voluntária ocorre dentro das atividades comuns do roedor, uma vez que ele escolhe em qual momento irá praticar a atividade (De Bono et al., 2006; Colleti et al., 2013). Estudos prévios com este modelo experimental de EFV realizados com camundongos Swiss mostraram que os animais correm uma média de 3,5 km/dia (Muller et al., 2011).

Mul et al. (2018) realizaram um estudo com camundongos utilizando a roda de corrida voluntária, dessa forma foi avaliado que camundongos sedentários expostos a um estressor desenvolveram um estado semelhante à depressão, caracterizado por anedonia e isolamento social, enquanto camundongos expostos ao mesmo estressor mas que tinham acesso a roda de corrida voluntária apresentaram resiliência.

Além dos benefícios cognitivos, esta atividade também apresenta outros benefícios, como por exemplo, a melhora da aprendizagem espacial em camundongos idosos em comparação a camundongos sedentários (van Praag et al.,

2005); a saúde cardiovascular e redução do risco de várias patologias relacionadas à idade, como síndrome metabólica, diabetes, doença de Alzheimer e doença Parkinson (Lakka e Laaksonen, 2007; Liang et al., 2010; Xu et al., 2010).

1.4 JUSTIFICATIVA

A obesidade resultante do menor gasto energético ou, esforço físico e alta ingestão de energia pode induzir o aumento do estresse oxidativo. A baixa prática de atividades físicas associada ao consumo inadequado de alimentos ricos em gorduras e carboidratos, tais como os *fast foods*, tornam os indivíduos propensos a anormalidades metabólicas associadas à obesidade (Halliwell, 1994). Portanto, torna-se importante que as estratégias de manejo da obesidade incluam intervenções para a redução da gordura visceral por meio de exercícios físicos e restrições alimentares, de modo que a instabilidade genômica seja minimizada e o risco de malignidade reduzido (Gandhi e Kaur, 2012).

Devido aos inúmeros malefícios causados por uma dieta rica em alimentos industrializados e altamente palatáveis, tais como alteração no metabolismo da glicose, resistência à insulina e aumento de danos ao DNA, a obesidade se torna mais prevalente e faz-se necessário estratégias que minimizem as alterações bioquímicas e genotóxicas, melhore a qualidade de vida dos indivíduos e previna contra as desordens causadas por ela. Neste contexto, podemos sugerir o exercício físico, uma vez que a prática regular do mesmo está relacionada a melhora no metabolismo da glicose, doenças cardiovasculares, diminuição da utilização da insulina, além de contribuir para a perda de peso, mas principalmente devido aos diversos benefícios em modular danos genotóxicos e melhorar parâmetros bioquímicos em indivíduos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da prática de exercício físico voluntário sobre parâmetros bioquímicos e genotóxicos em camundongos alimentados com uma DC.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Investigar se a DC altera consumo alimentar, peso corporal e eficiência energética e se o EFV é capaz de reverter estes efeitos;
- 2) Avaliar a resposta glicêmica em camundongos alimentados com DC e se o EFV é capaz de melhorar estes parâmetros;
- 3) Avaliar o índice de adiposidade corporal dos camundongos submetidos à DC e os efeitos da prática de EFV nestes animais;
- 4) Analisar se a DC altera parâmetros de genotoxicidade e mutagenicidade em sangue periférico e medula óssea e se a prática de EFV é capaz de reverter estas alterações.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CRITÉRIOS ÉTICOS

Foram utilizados 60 camundongos machos Swiss (20-30 g), com 30 dias de idade. Os animais foram obtidos do Centro de Experimentação Animal (CEA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense, alojados em caixas de polietileno, com comida e água *ad libitum* e mantidos em um ciclo de 12 horas luz-escuro (a luz é ligada às 7h), com temperatura controlada de 22 ± 1 °C.

3.1.1 Comissão de Ética no Uso de Animais

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolo número 025/2018-2, conforme Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008 da cidade de Criciúma–SC. Os experimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, lei Arouca nº11.794/2008. Cuidados foram tomados de modo a evitar ao máximo o desconforto e sofrimento para os animais.

3.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O desenho experimental consistiu em 18 semanas totais de experimento, sendo composta por 6 grupos experimentais com 10 ou 30 animais (figura 1). Grupo DP: 10 animais que foram alimentados com DP (ração proveniente do CEA) nas 18 semanas experimentais; grupo DC: 30 animais que foram alimentados com DC nas 14 semanas iniciais, após essas 14 semanas este grupo subdividiu-se em três grupos: grupo DC - 10 animais continuaram consumindo DC até a finalização do experimento; grupo DC | DP + EFV - 10 animais pararam de consumir DC e seguiram comendo apenas DP e iniciaram a prática de EFV até a finalização do experimento; grupo DC | DP - 10 animais pararam de consumir DC e seguiram comendo apenas DP até a finalização do experimento. Grupo DP + EFV: 10 animais que foram alimentados com DP e praticaram EFV nas 18 semanas experimentais; grupo DC + EFV: 10 animais que foram alimentados com DC e praticaram EFV nas 18 semanas experimentais.

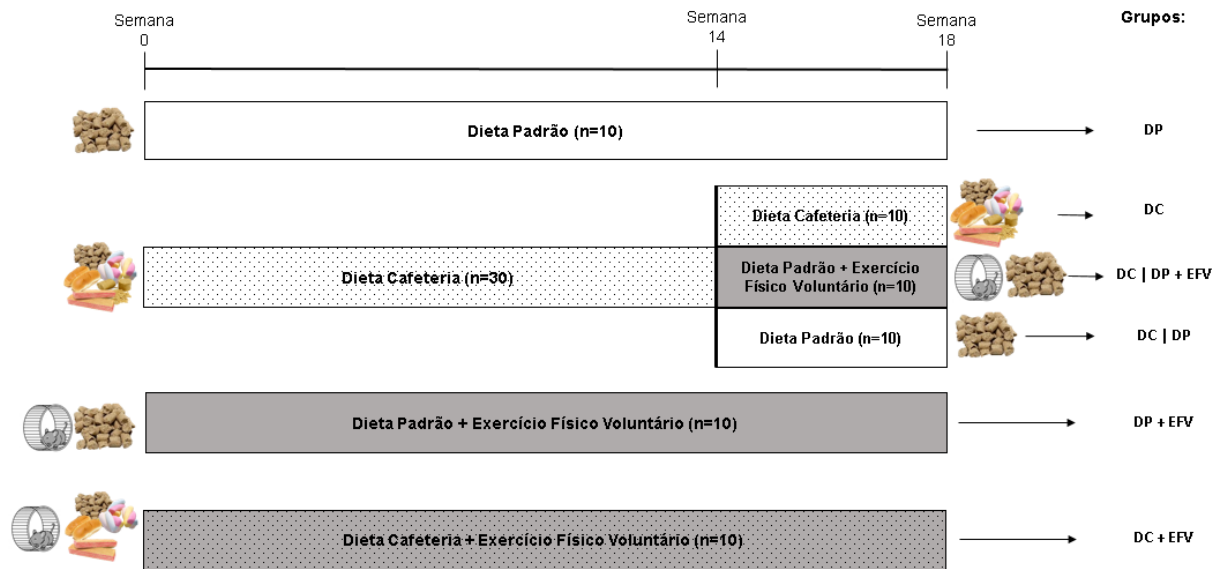


Figura 1: Desenho experimental.

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

Todos os animais passaram por duas coletas de sangue: a primeira coleta procedeu-se na 14^a semana de experimentação, essa amostra foi retirada com o objetivo de dosar a glicemia de jejum, resistência à insulina (ambos através do Teste de Tolerância à Insulina – ITT) e verificar a presença ou ausência de danos ao DNA através do EC. A segunda coleta foi realizada ao final do experimento (18^a semana) onde, nesta última coleta, além da retirada de sangue e eutanásia dos animais, retirou-se quatro tipos de gorduras (epididimal, mesentérica, retroperitoneal e perirrenal) afim de realizar o índice de adiposidade. Estas coletas estão melhores exemplificadas na linha do tempo abaixo (figura 2):

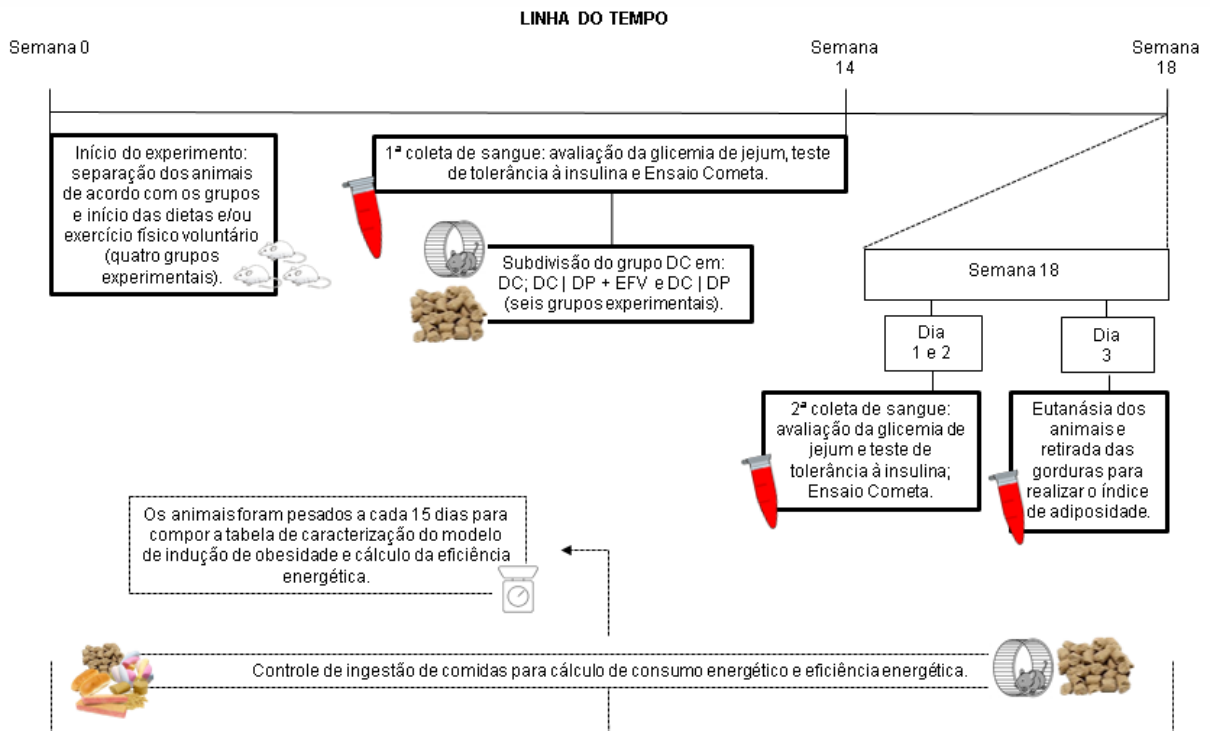


Figura 2: Linha do tempo.

3.3 DIETA CAFETERIA

A DC é uma dieta palatável, de alto teor calórico e glicídico. Esta dieta foi escolhida devido a sua semelhança com os padrões modernos de consumo alimentar humano e devido a sua trajetória de sucesso na indução de obesidade em animais (Estadella et al., 2004; Kumar et al., 2011). A DC neste trabalho foi adaptada a partir de uma dieta previamente descrita por Shafat et al. (2009) e composta de alimentos como salsicha, barrinha de cereal, salgadinho de queijo nacho, chocolate ao leite, bolacha recheada, *marshmallow*, biscoito amanteigado, doce de leite, paçoca. O fornecimento de alimentos de ambas as dietas, DP e DC foi renovado todas as segundas, quartas e sextas-feiras até complementarem as 18 semanas de experimento. Os animais que receberam a DC também tiveram acesso a DP e água. Os cardápios semanais estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Cardápio semanal dos animais submetidos à dieta cafeteria.

Dias da semana	Alimentos
Segunda-feira e terça-feira	Geleia de coco e abóbora, goma, salsicha, bolo, pão, salgadinho de bacon, <i>marshmallow</i> e biscoito amanteigado.
Quarta-feira e quinta-feira	Doce de leite, goma, goiabada, <i>wafer</i> de morango, mortadela, pão, salgadinho de queijo, barrinha de cereal.
Sexta-feira, sábado e domingo	Bolacha recheada, geleia de coco e abóbora, paçoca, bolacha salgada, salgadinho de queijo nacho, <i>marshmallow</i> , chocolate ao leite, pão e salgadinho de bacon.

Fonte: Produzida pelo autor.

Na tabela 2 estão descritos os constituintes de cada dieta, sendo que, os cálculos foram feitos baseados nas informações fornecidas pelos fabricantes nos rótulos das embalagens dos alimentos industrializados, bem como, conforme as informações fornecidas pelo fabricante da ração.

Tabela 2: Composição nutricional das dietas.

	Dieta padrão (3,36 kcal/g)		Dieta cafeteria (3,83 kcal/g)	
	g/100g	kcal/100g	g/100g	kcal/100g
Proteínas	22	88	6	24
Carboidratos	53	212	65	260
Gorduras	4	36	11	99

Fonte: Produzida pelo autor.

Legenda: g – gramas; kcal – quilocalorias.

3.4 TRATAMENTO: EXERCÍCIO FÍSICO VOLUNTÁRIO

O EFV foi realizado por meio de uma roda de corrida voluntária (figura 3) alocada no interior das gaiolas durante todo o tempo de tratamento (variando de acordo com cada grupo), permitindo assim o livre acesso por parte dos animais. Neste modelo os animais correm cerca de 3,5 km/dia (Muller et al., 2011).



Figura 3: Roda de corrida voluntária acoplada à caixa.

3.5 CONSUMO ALIMENTAR, GANHO DE PESO CORPORAL DOS ANIMAIS E EFICIÊNCIA ENERGÉTICA

Os animais foram pesados a cada 15 dias ao longo de todo o experimento. O consumo alimentar (comida) foi calculado a cada 48 horas, pela pesagem da quantidade total de alimentos (g) fornecida aos animais e subtraindo da quantidade (g) do remanescente na gaiola a cada troca, durante todo o período experimental. Com base na ingestão de alimentos e na quantidade correspondente de energia, os seguintes parâmetros foram calculados: consumo total energético (kcal/dia) = média do consumo alimentar/calorias da dieta por dia e eficiência energética (g/kcal) = média do ganho de peso corporal/média do consumo energético (Diniz et al., 2004; Diniz et al., 2005).

3.6 GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Os alimentos foram retirados seis horas antes do teste e a primeira coleta de sangue equivalerá ao tempo zero do teste. Após isso, a insulina (2 U/Kg de peso corporal) foi injetada intraperitonealmente e amostras de sangue foram coletadas pela veia caudal nos tempos 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos, para a determinação da

glicose sérica através de glicosímetro. A velocidade constante do decaimento da glicose (Kitt) foi calculada usando a fórmula $0,693/t_{1/2}$. O $t_{1/2}$ da glicose foi calculado a partir da curva da análise dos mínimos quadrados da concentração da glicose sérica durante a fase de decaimento linear. Esse teste foi realizado para comprovação da instalação da resistência à insulina nos camundongos (Wajchenberg et al., 1999).

3.7 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE CORPORAL

Para avaliar o índice de adiposidade dos animais, foi extraído o tecido adiposo epididimal, mesentérico, retroperitoneal e perirrenal para posterior cálculo (grama de gordura /grama peso corporal x 100). As estruturas foram retiradas no dia da eutanásia e na sequência pesadas em balança analítica para viabilizar o cálculo.

3.8 ENSAIOS DE GENOTOXICIDADE

Para realização dos ensaios de genotoxicidade, foi utilizado sangue para a realização do EC e medula óssea, para realização do Teste de MN.

3.8.1 Ensaio Cometa

O EC foi avaliado em dois momentos: na troca de dieta e/ou exposição à atividade física (14ª semana) e ao final do experimento (18ª semana).

O EC foi realizado sob condições alcalinas, conforme descrito por Singh et al. (1988), com algumas modificações sugeridas por Tice et al. (2000). O sangue foi coletado e colocado em microtubos heparinizados e refrigerados. As células de sangue (alíquotas de 5µL) foram embebidas em agarose de baixo ponto de fusão (0.75%, w/v, 95 µL ou 75 µL, respectivamente) e a mistura foi adicionada a uma lâmina de microscopia pré-coberta com agarose de ponto de fusão normal (1%), cobriu-se posteriormente com uma lamínula e levando, então, à geladeira por 5 minutos a 4°C para solidificação. Logo após, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas e as lâminas imersas em tampão de lise (2,5M NaCl, 100mM EDTA e 10mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora do uso de 1% de Triton X – 100 e 10% de DMSO) a 4°C por um período mínimo de 1 hora e máximo de 2 semanas.

Após este período, as lâminas foram incubadas em tampão alcalino (300mM NaOH e 1mM EDTA, pH>13) por 30 minutos para o desenovelamento do DNA e a corrida eletroforética, realizou-se no mesmo tampão nas seguintes condições: a 30v e 300mA por 20 minutos. Todas estas etapas foram realizadas sob luz indireta, fraca e amarela. Posteriormente as lâminas foram neutralizadas com 0,4M Tris (pH 7,5) e, ao final, o DNA foi corado com 10 mg/mL de solução de *Sybrgold* (Invitrogen, USA) para posterior análise em microscópio de fluorescência com aumento de 400x. Foi realizada avaliação de 100 células por indivíduo e por tecido (50 células em cada lâmina duplicada). Tais células foram avaliadas pelo software *CometAssay IV* e o parâmetro utilizado foi o *tail intensity*.

As diretrizes internacionais e recomendações para o ensaio do cometa consideram que o escore visual de 100 cometas é um método de avaliação bem validado (Collins et al., 1997). Foram utilizados controles negativos e positivos para cada teste de eletroforese a fim de assegurar a confiabilidade do procedimento. Todas as lâminas foram codificadas para análise às cegas.

3.8.2 Teste de Micronúcleos

O Teste de MN foi realizado de acordo com o programa Gene - Tox da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (Mavournin et al., 1990; Krishna e Hayashi, 2000). Após a extração da medula óssea, um esfregaço foi preparado diretamente na lâmina com uma gota de soro bovino fetal. As lâminas foram coradas com Giemsa 5%, secas e codificadas para análises às cegas. Como uma medida de toxicidade na medula óssea, a relação entre eritrócitos policromáticos (EPC) e eritrócitos normocromáticos (ENC) (EPC/ENC) foi analisada em 200 eritrócitos/animal. A incidência de MN foi observada em 2000 EPCs e ENCs para cada animal (ou seja, 1000 a partir de cada uma das duas lâminas preparadas em duplicata), usando microscópio óptico de luz branca com ampliação de 1000x. O número médio de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) e eritrócitos normocromáticos micronucleados (ENCMn) individual foi utilizado como unidade experimental.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão da média (média \pm DP). A normalidade das variáveis foi analisada através do teste de Bartlett's.

Para comparação entre tempos diferentes quanto a consumo alimentar, consumo energético, eficiência energética, peso corporal, glicemia de jejum e EC utilizou-se ANOVA de duas vias seguido de *post hoc* de Bonferroni.

Para comparação entre os grupos e tempos iguais quanto a consumo alimentar, consumo energético, eficiência energética, peso corporal, glicemia de jejum, EC, ITT e índice de adiposidade utilizou-se ANOVA de uma via seguido de Tukey.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *GraphPadPrism* 5.0. Foram consideradas diferenças significativas quando o $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 CONSUMO ALIMENTAR, CONSUMO ENERGÉTICO, EFICIÊNCIA ENERGÉTICA E PESO CORPORAL DOS ANIMAIS

Durante todo o experimento foram avaliados o consumo alimentar e o peso corporal dos animais, dessa forma pode-se calcular o consumo e eficiência energética, que podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3: Consumo alimentar, consumo energético, eficiência energética e peso corporal dos animais.

Parâmetros	Grupos					
	DP	DC	DP + EFV	DC + EFV	DC DP + EFV	DC DP
14ª semana						
Consumo alimentar (g/dia/camundongo)	4,79 ± 0,59	4,83 ± 0,72	5,89 ± 0,44 ^a	5,27 ± 0,35 ^b	-	-
Consumo energético (kcal/dia)	16,18 ± 1,93	18,15 ± 2,57 ^a	19,93 ± 1,59 ^a	20,63 ± 1,43 ^b	-	-
Eficiência energética (g/kcal)	1,52 ± 0,47	1,83 ± 0,07	1,46 ± 0,12	1,62 ± 0,18	-	-
Peso corporal total (g)	27,76 ± 7,17	38,92 ± 3,48 ^a	29,16 ± 7,44	38,64 ± 4,76 ^c	-	-
18ª semana						
Consumo alimentar (g/dia/camundongo)	5,25 ± 0,64	4,14 ± 0,84	6,45 ± 0,32 ^a	5,16 ± 0,96 ^b	6,28 ± 0,54 ^b	5,43 ± 0,76 ^b
Consumo energético (kcal/dia)	17,66 ± 2,03	17,66 ± 1,07	21,67 ± 1,07 ^a	20,32 ± 2,98	20,89 ± 1,77 ^b	18,24 ± 2,56
Eficiência energética (g/kcal)	2,01 ± 0,07	2,36 ± 0,13 ^a	1,63 ± 0,01 ^a	1,89 ± 0,14 ^{b,c}	1,92 ± 0,03 ^b	2,26 ± 0,14
Peso corporal total (g)	35,13 ± 2,94	40,33 ± 3,20 ^a	34,92 ± 2,90	37,74 ± 3,95	39,60 ± 0,54	39,27 ± 2,08

Os dados apresentados na 14ª semana compõem a média por grupo das primeiras 14 semanas de experimentação e os dados apresentados na 18ª semana compõem a média por grupo das últimas 4 semanas de experimentação em todos os quatro parâmetros avaliados. Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média. ^aDiferença significativa em relação ao grupo DP no mesmo período de tempo; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DC no mesmo período de tempo; ^cDiferença em relação ao grupo DP + EFV no mesmo período de tempo (p<0,05) (ANOVA de duas vias seguido de *post hoc* de Bonferroni para comparação entre a 14ª semana e a 18ª semana e ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey para comparação entre os grupos no mesmo período de tempo).

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

Através do parâmetro de consumo alimentar pode-se observar que na 14^a e 18^a semana o grupo DP + EFV diferiu significativamente do grupo DP, ou seja o grupo que consumiu ração padrão e praticou EFV, ingeriu maior quantidade de DP em ambas semanas avaliadas ($p < 0,05$). Esta diferença também pode ser vista quando compara-se o grupo DC + EFV em relação ao grupo DC. O grupo praticante de EFV consumiu mais alimentos por dia do que o grupo apenas alimentado com DC ($p < 0,05$). Em relação aos grupos que trocaram de dieta e/ou iniciaram a prática de EFV (DC | DP + EFV e DC | DP), estes tiveram maior consumo alimentar quando comparados ao grupo DC no mesmo período de tempo ($p < 0,05$).

A partir dos dados de consumo alimentar e das calorias das dietas (DP e/ou DC) por dia foi possível elaborar o consumo total energético (kcal/dia). O consumo energético na 14^a semana dos grupos que praticaram EFV (DP + EFV e DC + EFV) foi significativamente diferente dos seus controles (DP e DC, respectivamente). Além disso, o grupo alimentado apenas com DC durante as primeiras 14 semanas experimentais obteve maior consumo energético do que o grupo alimentado apenas com DP. Ao analisar a 18^a semana de tratamento, pode-se observar que o grupo DP + EFV apresentou diferença significativa do grupo DP e o grupo DC | DP + EFV apresentou maior consumo energético quanto comparado ao grupo DC ($p < 0,05$).

A eficiência energética (g/kcal) é calculada através da média de ganho de peso corporal (g) e o consumo energético (kcal). De acordo com a tabela acima, pode-se perceber que na 18^a semana os grupos DP + EFV e DC diferiram significativamente do grupo que consumiu DP, no primeiro caso mostrando uma diminuição dos valores e no último, um aumento. O grupo DC + EFV apresentou diferença significativa em relação ao grupo DC (diminuindo a eficiência energética) bem como em relação ao grupo que alimentou-se com DP e praticou EFV (DP + EFV), só que nesse caso houve um aumento da eficiência energética ($p < 0,05$). E o grupo DC | DP + EFV diferiu significativamente do grupo DC, demonstrando menor eficiência energética ($p < 0,05$).

Os animais foram pesados a cada quinze dias, para assim possibilitar o cálculo de ganho de peso corporal dos mesmos. Na tabela 3 observa-se que na 14^a semana de intervenção, os grupos que consumiram DC (DC e DC + EFV) tiveram maior peso corporal do que seus controles (DP e DP + EFV). Na 18^a semana apenas o grupo DC apresentou diferença significativa em relação ao grupo DP no que se refere ao peso corporal ($p < 0,05$).

4.2 GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Com o objetivo de se avaliar parâmetros glicêmicos foi realizado a glicemia de jejum (tabela 4) e o ITT (figura 4) nos animais dos diferentes grupos experimentais, em dois momentos: 14^a e 18^a semana experimental.

Na coleta de sangue após quatorze semanas de experimento foi observada uma diferença significativa na glicemia de jejum do grupo DC em relação ao grupo DP ($p < 0,05$). Já ao final do experimento (na 18^a semana), realizou-se outra coleta de sangue e foi observado que os grupos que consumiram DC durante as quatorze semanas e nas últimas quatro semanas passaram a ingerir somente a DP e praticar ou não EFV (DC | DP e DC | DP + EFV) diferiram significativamente do grupo DC no mesmo período de tempo (18 semanas), mostrando que em ambas as comparações a glicemia de jejum dos animais diminuiu significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 4: Glicemia de jejum (mg/dL) na 14ª e 18ª semana experimental.

Período	Grupos					
	DP	DC	DP + EFV	DC + EFV	DC DP + EFV	DC DP
14ª semana	120,8 ± 13,5	158,2 ± 20,69 ^a	113,7 ± 20,76	128,7 ± 28,22 ^b	-	-
18ª semana	114,0 ± 18,95	139,6 ± 23,82	114,3 ± 17,44	147,4 ± 25,19	106,6 ± 21,41 ^{b, c}	107,6 ± 10,41 ^{b, c}

Os dados apresentados na 14ª semana compõem a média das primeiras 14 semanas de experimentação e os dados apresentados na 18ª semana compõem a média das últimas 4 semanas de experimentação em todos os quatro parâmetros avaliados. Os dados estão expressos como média ± desvio padrão da média. ^aDiferença significativa em relação ao grupo DP no mesmo período de tempo; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DC no mesmo período de tempo; ^cDiferença significativa em relação ao grupo DC na 14ª semana ($p < 0,05$) (ANOVA de duas vias seguido de *post hoc* de Bonferroni para comparação entre a 14ª semana e a 18ª semana e ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey para comparação entre os grupos no mesmo período de tempo).

Os resultados referentes ao ITT podem ser observados nas figuras 3 e 4 abaixo. O ITT foi avaliado em dois momentos: na 14^a e 18^a semana de experimentação. Em relação a 14^a semana, figura 4, gráfico A, os animais dos grupos que se alimentaram com DP (DP e DP + EFV) apresentaram valores mais baixos de glicemia quando comparados aos grupos que consumiram DC (DC e DC+EFV). Pode ser observado também a diminuição da glicemia em razão do tempo em todos os grupos avaliados.

Ao analisar a figura 4, gráfico B nota-se que os grupos que consumiram DP (DP e DP + EFV) e os grupos que sofreram algum tipo de intervenção (DC | DP + EFV e DC | DP) apresentaram glicemia inferior aos grupos que consumiram DC durante todas as semanas experimentais (DC e DC + EFV). Assim como na 14^a semana, na 18^a semana também pode ser observado a diminuição da glicemia de jejum em razão do tempo em todos os grupos avaliados.

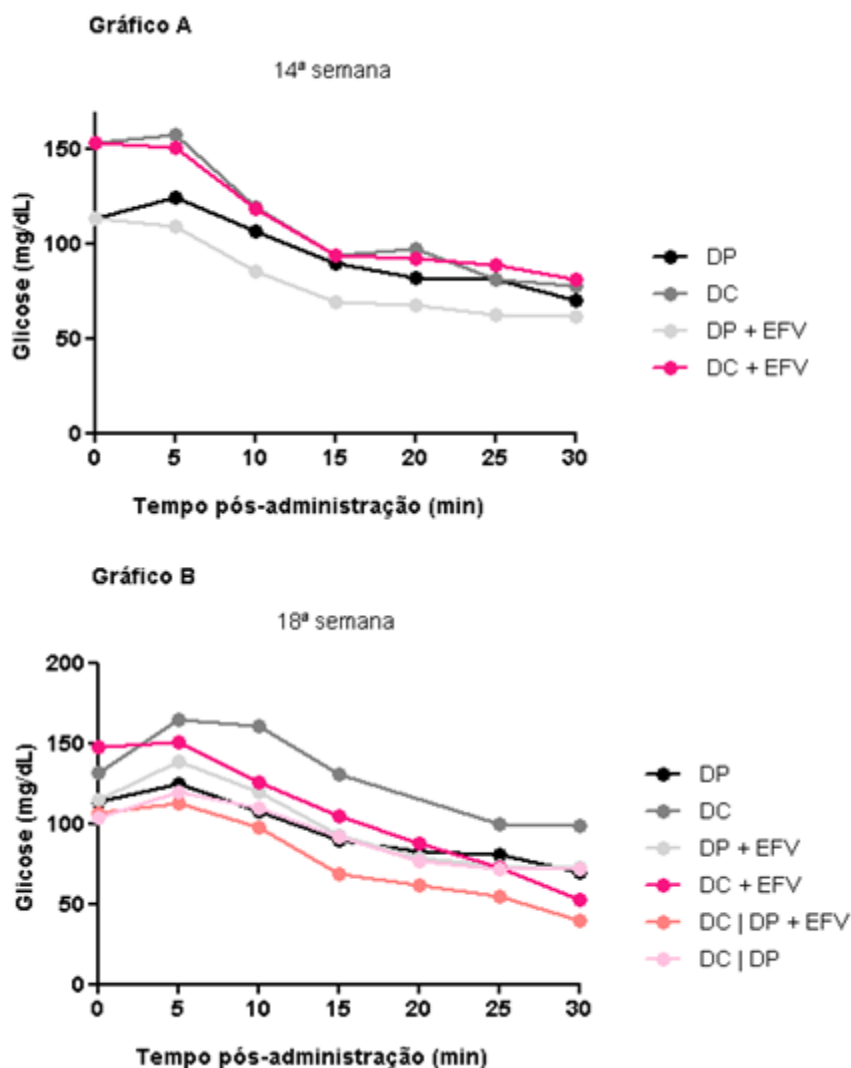


Figura 4: Teste de Tolerância à Insulina na 14ª e 18ª semana experimental. As diferenças significativas são elucidadas na figura 5 área sob a curva (ASC) do Teste de Tolerância à Insulina (ITT).
Legenda: DP: Dieta Padrão. Legenda: DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

A partir dos resultados obtidos na área sob a curva (figura 5), pode-se observar que na 14ª semana de tratamento os grupos que se alimentaram com DC apresentaram maior resposta glicêmica quando comparados aos seus grupos DP, portanto, pode-se aferir que os grupos que consumiram DC desenvolveram resistência à insulina.

Em relação a 18ª semana pode-se observar que o grupo que consumiu DC diferiu significativamente do grupo DP ($p < 0,05$), porém a resistência à insulina não foi

revertida nos grupos que trocaram de dieta (DC | DP + EFV e DC | DP) e no grupo que iniciou a prática de EFV (DC | DP + EFV) ($p < 0,05$).

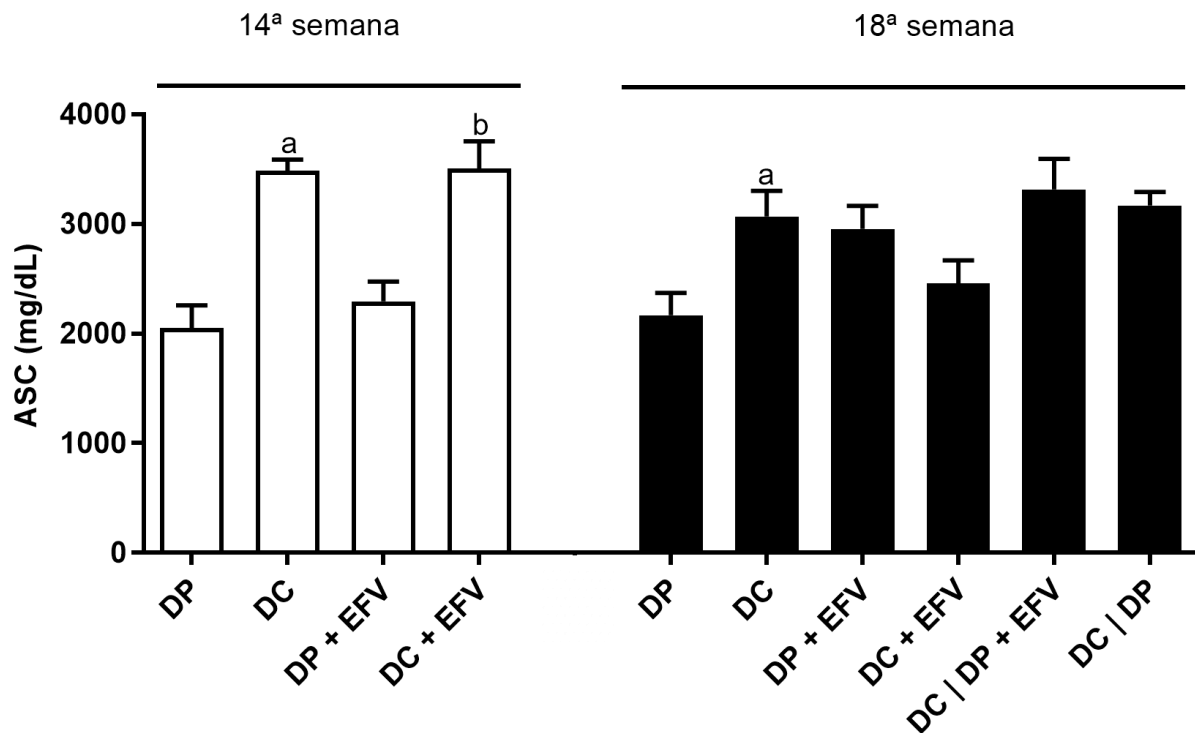


Figura 5: Área sob a curva (AUC) do Teste de Tolerância à Insulina (ITT) na 14ª e 18ª semana experimental (n=6). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($p < 0,05$) (ANOVA, *post hoc* de Tukey). ^aDiferença significativa em relação ao grupo DP no mesmo período de tempo; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DP+EFV no mesmo período de tempo.

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

4.3 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE CORPORAL

A avaliação do índice de adiposidade corporal foi realizada através da coleta dos tecidos adiposos epididimal, mesentérico, perirrenal e retroperitoneal após a morte dos animais na 18ª semana de tratamento e os resultados podem ser observados na figura 6 abaixo.

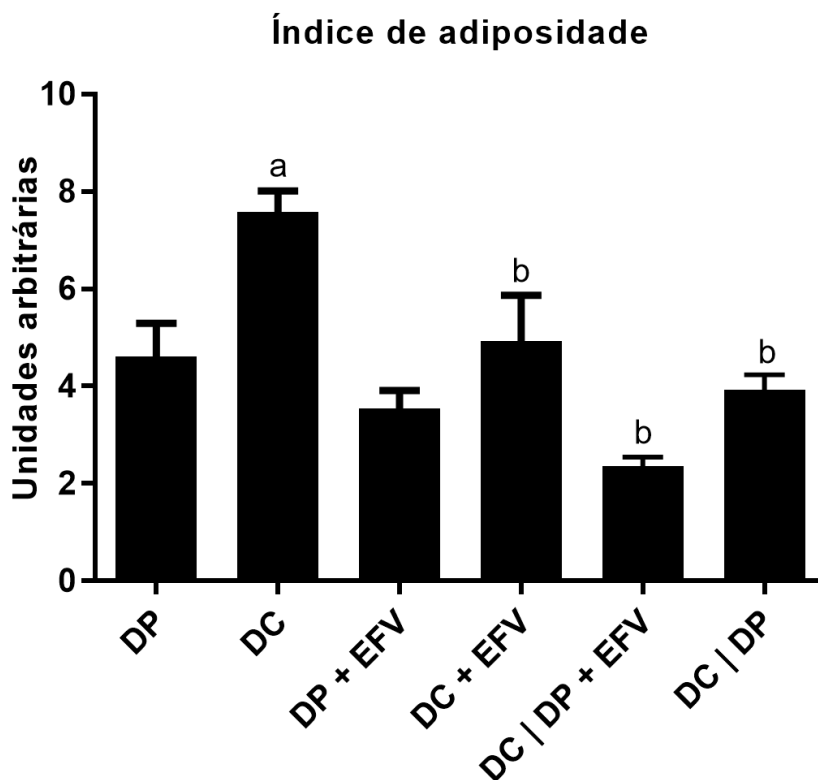


Figura 6: Índice de adiposidade. Efeitos sobre a composição corporal de camundongos alimentados com dieta padrão e/ou dieta cafeteria e submetidos ou não ao exercício físico voluntário. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($p < 0,05$) (ANOVA, *post hoc* de Tukey). ^aDiferença significativa em relação ao grupo DP; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DC.

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

De acordo com estes resultados, pode-se observar que o grupo alimentado por DC teve maior acúmulo de gordura nas estruturas avaliadas, diferindo significativamente do grupo alimentado com DP ($p < 0,05$), conseqüentemente a DC foi eficaz em aumentar os tecidos adiposos dos animais que receberam essa dieta durante as 18 semanas experimentais.

Baseado na figura 6, o grupo que recebeu a DC e praticou exercício físico durante 18 semanas (DC + EFV) foi significativamente diferente do grupo DC. Da mesma forma, os grupos que interromperam o consumo de DC na 14^a semana e iniciaram o consumo de DP com ou sem a prática de EFV (DC | DP + EFV e DC | DP) também mostraram índices de adiposidade significativamente menores que o grupo DC ($p < 0,05$).

4.4 ENSAIO COMETA

O EC foi realizado em dois momentos: na 14^a e 18^a semana experimental (figura 7), afim de apontar se a DC se mostrou genotóxica e se o EFV foi capaz de reverter essa alteração. A partir dos resultados expostos abaixo, observa-se que a DC foi genotóxica, pois em ambos as semanas avaliadas (14^a e 18^a) o grupo que consumiu DC apresentou valores de danos em DNA significativamente maiores que o grupo que consumiu DP ($p < 0,05$).

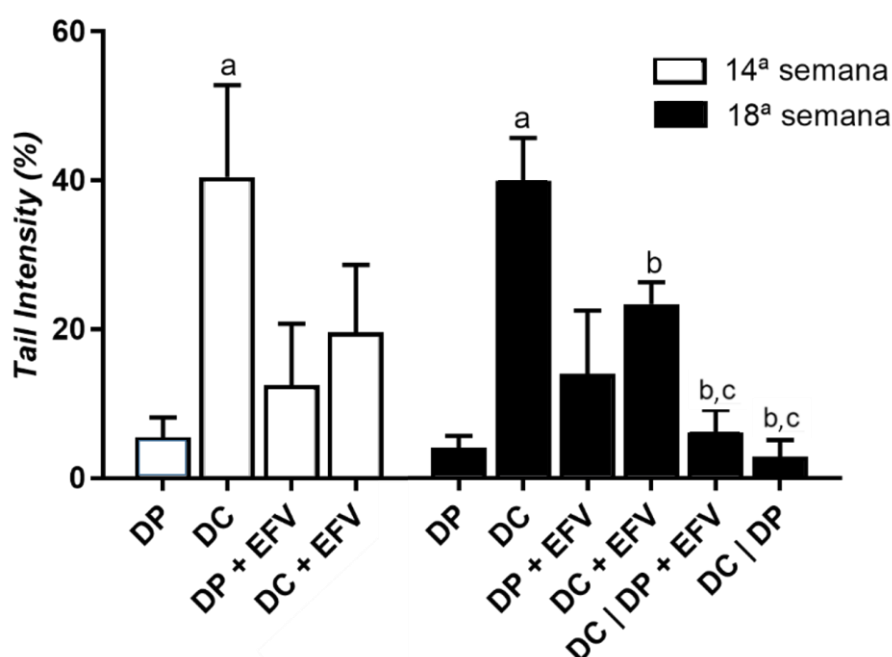


Figura 7: *Tail intensity* (%) de células de sangue periférico avaliadas na 14^a e 18^a semana experimental ($n=6$). Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão da média ($p < 0,05$) (ANOVA de duas vias seguido de *post hoc* de Bonferroni para comparação entre a 14^a semana e a 18^a semana e ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey para comparação entre os grupos no mesmo período de tempo). ^aDiferença significativa em relação ao grupo DP no mesmo período de tempo; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DC no mesmo período de tempo; ^cDiferença significativa em relação ao grupo DC na 14^a semana.

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

Ao analisar-se o grupo que consumiu DC e praticou EFV (grupo DC + EFV) na 18^a semana, pode-se notar que este grupo diferiu significativamente do grupo DC, mostrando que o EFV foi capaz de diminuir os danos no DNA desencadeados pela DC ($p < 0,05$).

No que se refere aos grupos que trocaram a DC por DP após as 14 semanas, iniciando ou não a prática de EFV (DC | DP + EFV e DC | DP), estes apresentaram valores de dano significativamente menores quando comparados ao grupo DC na 14ª semana de tratamento. Também pode-se observar diminuição de danos quando compara-se os grupos DC | DP + EFV e DC | DP ao grupo DC do mesmo período de tempo (18 semanas) ($p < 0,05$).

4.5 TESTE DE MICRONÚCLEOS

Com o objetivo de verificar se a DC apresentou mutagenicidade e se o EFV foi capaz de reverter esta alteração, realizou-se o Teste de MN. Ao comparar o grupo que consumiu apenas DC com o grupo DP verifica-se um aumento significativo de MN no grupo DC ($p < 0,05$), constatando que a DC demonstrou ser mutagênica. Ao analisar os grupos que sofreram algum tipo de intervenção (DC | DP + EFV e DC | DP) pode-se observar que estes grupos reduziram significativamente o número de MN quando compara-se ao grupo DC ($p < 0,05$).

Tabela 5: Teste de Micronúcleos. Número de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMn) e eritrócitos normocromáticos micronucleados (ENCMn) em medula óssea de camundongos alimentados por dieta padrão e/ou dieta cafeteria e submetidos ou não a exercício físico voluntário. Foram analisadas 2.000 células por amostra e os dados são apresentados na tabela como média \pm desvio padrão.

Grupos	EPCMn	ENCMn	EPC/ENC
DP	0,17 \pm 0,41	0,00 \pm 0,00	0,54 \pm 0,05
DC	4,33 \pm 0,82 ^a	0,00 \pm 0,00	0,55 \pm 0,04
DP + EFV	1,00 \pm 0,89	0,00 \pm 0,00	0,56 \pm 0,02
DC + EFV	3,50 \pm 0,84	0,00 \pm 0,00	0,55 \pm 0,02
DC DP + EFV	1,17 \pm 0,41 ^b	0,00 \pm 0,00	0,57 \pm 0,02
DC DP	1,83 \pm 0,75 ^b	0,00 \pm 0,00	0,55 \pm 0,02

^aDiferença significativa em relação ao grupo DP; ^bDiferença significativa em relação ao grupo DC. ($p < 0,05$), ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey.

Legenda: DP: Dieta Padrão. DC: Dieta Cafeteria. EFV: Exercício Físico Voluntário.

5 DISCUSSÃO

A obesidade é uma epidemia global e crescente que aumenta o risco de diversas doenças, tais como cardíacas, hipertensão, acidente vascular cerebral, DM, disfunção renal e certos tipos de câncer (OMS, 2018). Isso se deve a mudanças profundas na disponibilidade, qualidade, quantidade e fonte de alimentos consumidos, combinada com uma diminuição nos níveis de atividade física (Zeeni et al., 2015). Sendo assim, recomenda-se diversas estratégias para reduzir o aumento da prevalência de obesidade, incluindo exercícios físicos regulares, suplementação de micronutrientes e ingestão alimentar de frutas e legumes. Está bem documentado que a redução de peso diminui os marcadores de oxidação, aumenta as defesas antioxidantes e reduz os fatores de risco patológicos associados à obesidade (Sofi et al., 2010).

A atividade física regular é um dos aspectos mais importantes para a preservação da saúde (Fiuza-Luces et al., 2013; Sanchis-Gomar et al., 2015). As muitas vantagens da atividade física incluem prevenção de doenças (e às vezes tratamento), controle de peso, humor e até mesmo melhora do sono.

Pensando em reproduzir a obesidade em modelos experimentais a fim de estudar seu mecanismo e alternativas que visem diminuir as alterações causadas pela mesma, estudos em roedores tem utilizado a DC para mimetizar esta patologia, pois é um modelo animal capaz de induzir hiperfagia e obesidade. Esta dieta é a mais indicada para indução de obesidade em pesquisas científicas pois os animais tem livre escolha de alimentos com alto teor de gordura, energia e açúcar (Shafat et al., 2009). Além disso, é considerada um ótimo modelo para simular a dieta humana moderna, uma vez que é composta em sua maior parte por produtos industrializados, com elevado teor de gordura, açúcar e sal (Martire et al., 2013). Assim, com o objetivo de atenuar ou reverter as alterações metabólicas, bioquímicas e genotóxicas causadas pela obesidade, o presente estudo avaliou o efeito do EFV em camundongos alimentados com uma dieta indutora de obesidade.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se observar que os animais aumentaram de peso corporal no decorrer dos quatro meses de dieta e estes resultados estão de acordo com a literatura, como observado no artigo de Leffa e colaboradores (2014) onde os animais alimentados com DC também aumentaram o

seu peso durante o experimento. De fato, estudos na literatura já tem relatado que camundongos alimentados com DC tiveram maior peso corporal, consumo de energia e porcentagem de gordura intra-abdominal em comparação com outros grupos dietéticos (Foster et al., 2009; Zeeni et al., 2013). Estes resultados podem ser explicados pois os alimentos constituintes da dieta cafeteria são mais calóricos (Martire et al., 2013).

Além disso, outro parâmetro avaliado no presente estudo foi a eficiência energética dos animais que receberam os alimentos industrializados, este parâmetro se mostrou maior, resultado concordante a outro encontrado na literatura, onde uma dieta rica em carboidratos (70%) também teve este faotr elevado (Cole et al., 2014).

Ademais, em relação aos grupos que praticaram EFV, pode-se observar que não houve alteração no peso desses animais em comparação aos grupos sedentários, mas houve um aumento do consumo de comida, assim explica-se o fato dos grupos fisicamente ativos não terem diminuído o seu peso, pois não houve um balanço energético negativo, que auxiliaria na manutenção e perda de peso durante o tratamento da obesidade, uma vez que o exercício físico é recomendado para aumentar o gasto energético, mas quando associado a um aumento do consumo alimentar, não contribuirá para a perda de peso corporal (Jakicic e Otto, 2006).

Como citado acima, observa-se que os grupos praticantes de EFV tiveram um consumo alimentar maior, resultado já previamente encontrado na literatura com ratos que praticaram EFV, demonstrando que o grupo praticante de exercício consumiu mais alimentos em relação ao grupo sedentário (Beaudry et al., 2015). No presente estudo o maior consumo alimentar foi acompanhado de um consumo energético maior e menor eficiência energética, ou seja, o aumento do consumo de alimentos leva a um aumento do consumo energético, porém a eficiência energética é menor pois o metabolismo destes animais utilizou de forma mais eficiente os alimentos ingeridos, resultado este que não foi observado nos grupos que não praticaram EFV. Uma vez que o aumento da atividade física combinada com restrição calórica afetaria as taxas de consumo de oxigênio, elevando o gasto energético e/ou utilização de substrato durante o exercício em adultos com sobrepeso ou obesidade (Amati et al., 2008; Goldsmith et al., 2010).

Também foi avaliado a resistência à insulina destes animais e pode-se observar que a DC foi eficaz em induzir resistência à insulina nos animais, corroborando com diferentes estudos encontrados na literatura que mostraram que

esta dieta aumenta os níveis plasmáticos de insulina e altera o metabolismo da glicose (Vanzela et al., 2010; Sampey et al., 2011; Sishi et al., 2011). De fato, Santos et al. (2006) demonstraram que dietas de alto índice glicêmico diminuem a sensibilidade à insulina, além de estarem associadas à hipertrigliceridemia e diminuição das concentrações plasmáticas de HDL-c. Além disso, a resistência à insulina está diretamente associada à maior deposição de gordura intra-abdominal (Ribeiro Filho et al., 2006), resultado este que também foi observado no presente estudo. Esses resultados são explicados pelo fato de que a resistência à insulina induzida pela DC pode levar ao comprometimento da função das células beta bem como reduzir o seu número, provavelmente devido a um aumento na apoptose e, portanto, podendo levar ao DM e suas complicações (Castell-Auví et al., 2012).

Os resultados demonstram que o grupo alimentado somente com DP e praticou EFV teve baixa glicemia e não se tornou resistente à insulina, uma vez que se mostrou semelhante ao grupo controle (DP). Já o grupo alimentado com DC e com acesso a roda de corrida voluntária (DC + EFV) apresentou valor de glicemia menor em relação ao grupo DC não ativo fisicamente na 14ª semana estudada, diferindo significativamente, entretanto este resultado não se manteve na 18ª semana, portanto o EFV não foi suficiente para reverter a resistência à insulina neste modelo estudado.

Estes resultados corroboram ao estudo de Beaudry et al. (2015) onde foi realizado o teste de glicemia de jejum e ITT em ratos que praticaram EFV em rodas de corrida durante aproximadamente duas semanas e meia. Esses autores observaram que os animais do grupo exercício tinham baixos níveis de glicemia e valores semelhantes ao grupo sedentário com relação ao ITT, dado este que também foi encontrado no presente estudo.

Já outro estudo com camundongos encontrou resultados semelhantes ao descrito acima, porém o desenho experimental consistiu de dez a dezoito semanas de EFV com as rodas de corrida em animais alimentados com ração padrão e uma dieta hiperlipídica (HP) e pode-se observar que os animais que praticaram exercício tiveram um resultado de ITT mais baixo, sendo que o EFV não foi capaz de reverter a resistência à insulina causada pela HP (Ma et al., 2010).

Em humanos, os resultados também são semelhantes ao do presente estudo, uma vez que diabéticos submetidos a um treinamento físico moderado tiveram uma diminuição da hemoglobina glicada (Pittaluga et al., 2015), este achado pode explicar o resultado encontrado neste estudo, uma vez que o grupo que se alimentou

de DC e praticou exercício durante as dezoito semanas teve um ITT mais baixo comparado com o grupo não praticante, porém, nos grupos que se alimentaram de DP e praticaram ou não EFV em apenas um mês, não foi possível observar essa reversão, então, talvez um tempo maior seria necessário para reverter este quadro de resistência à insulina.

O exercício voluntário normaliza a tolerância e a sensibilidade à glicose das ilhotas pancreáticas (Beaudry e Riddell, 2013) através de diferentes mecanismos supra-regulados de captação de glicose no músculo esquelético, ou seja, translocação GLUT4 (Bur et al., 2009; Bur et al., 2010), capacidade oxidativa (Nagatomo et al., 2012) e função das ilhotas pancreáticas, entre outros (Delghingaro-Augusto et al., 2012). No entanto, não foram observadas alterações no ITT dos animais que receberam as intervenções no final do tratamento, com isso, supõe-se que este resultado é devido a composição da ração padrão, uma vez que ela é composta principalmente de carboidratos (53%) e os animais não diminuíram o seu consumo, dificultando, desta forma, a reversão do quadro de resistência insulínica, além do tempo de quatro semanas não ter sido suficiente para reverter as alterações causadas pela obesidade.

Já está descrito na literatura que a resistência à insulina tem sido estudada como o principal elo entre a inatividade física e o desenvolvimento de síndrome metabólica (Roberts et al., 2013), contribuindo para o desenvolvimento de um quadro de obesidade, sendo que o estresse oxidativo está intimamente relacionado com esta patologia (Booth et al., 2015), uma vez que em indivíduos ativos fisicamente há altos níveis de sensibilidade e ação da insulina, modificando a ação deste hormônio (Roberts et al., 2013).

Em relação ao índice de adiposidade, os animais alimentados com DC tiveram um índice de adiposidade maior, sendo significativamente diferentes do grupo alimentado apenas com DP. Este resultado corrobora com o estudo de Terra et al. (2011), onde ratos alimentados com um tipo de DC foram diferentes estatisticamente dos animais alimentados apenas com DP em relação ao índice de adiposidade observados após trinta dias de experimento.

Além do resultado discutido acima, o grupo DC | DP + EFV e o grupo DC | DP no último mês de experimento apresentaram-se diferentes do grupo DC em relação a adiposidade. De fato, a roda de corrida voluntária e uma alimentação

equilibrada em animais reduz o ganho de massa corporal e a adiposidade em animais propensos à obesidade (Fediuc et al., 2006; Campbell et al., 2009; Yau et al., 2012).

Em síntese, a obesidade é acompanhada por níveis aumentados de ácidos graxos livres e hiperglicemia; o que, por sua vez, leva ao aumento da produção de ERO e ao estresse oxidativo (Leiter e Lewanczuk, 2005), sendo que o aumento do estresse oxidativo está relacionado com danos ao DNA (Cho e Roh, 2016).

Elwakkad et al. (2011) observaram níveis elevados de 8-OHdG no grupo obeso com alto IMC em comparação com o grupo obeso com IMC menor. Os níveis de danos ao DNA também aumentaram significativamente e a capacidade antioxidante total diminuiu significativamente em indivíduos com síndrome metabólica em comparação aos controles (Demirbag et al., 2006).

O estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de fatores de risco para doenças cardiovasculares na população obesa, uma vez que baixos níveis de lipoproteína de alta densidade circulante (HDL), níveis mais altos de triglicerídeos pós-prandiais e níveis elevados de lipoproteína de baixa densidade (LDL) induzem a geração de ERO no endotélio. Estas por sua vez, induzem alterações na expressão lipídica, formação de produtos lipídicos oxidados, como partículas de LDL oxidadas e ativação de macrófagos, que levam à formação de lesões ateroscleróticas. O aumento das ERO pode causar danos diretamente a lipídios, proteínas e DNA (Ceriello et al., 2002).

Este estudo avaliou que os animais alimentados com a DC apresentaram danos ao material genético, avaliados através do EC e Teste de MN, mostrando uma atividade genotóxica e mutagênica, respectivamente. No entanto, esta alteração genética não foi observada no grupo DP. Estes resultados corroboram com outros encontrados na literatura, como no estudo de Luperini et al. (2015) onde estes autores relataram a obesidade como uma das causas de danos no DNA, com base em níveis significativamente altos de quebras de cadeias duplas ou simples no mesmo, e purinas e pirimidinas oxidadas em mulheres com obesidade mórbida comparadas com mulheres eutróficas. Além disso, Karaman et al. (2015) sugeriram que há uma correlação positiva entre os danos ao DNA relacionados com a circunferência abdominal e o IMC.

Estudo realizado por Scarpato et al. (2011) com crianças com sobrepeso (n=20) e obesidade (n=61) observou que a frequência de micronúcleos era

significativamente maior em relação ao grupo com peso normal (n=38), acompanhado de um quadro aumentado de inflamação, avaliado através de IL-6 e proteína C-reativa.

Bankoglu e colaboradores (2018) realizaram um estudo com 45 indivíduos obesos que seriam submetidos à cirurgia bariátrica, e observaram alta frequência de MN em linfócitos dessas pessoas incluídas na pesquisa, resultado este associado com a prevalência de hipertensão e esteatose hepática não alcoólica.

No presente estudo também foi observado que o EFV não se mostrou genotóxico e mutagênico, pois o grupo DP + EFV não apresentou diferença significativa em relação ao grupo sedentário alimentado apenas com ração padrão. Estudo com roedores expostos a exercício aeróbico também mostraram que este não foi genotóxico, sendo que os animais foram treinados cinco dias por semana, durante oito semanas (Pereira et al., 2013). Em humanos os resultados são semelhantes, tal como observado no trabalho de Demibarg et al. (2006) que avaliou os danos ao DNA em indivíduos expostos a corrida em esteira e não observaram aumento nos níveis de dano ao material genético. Os efeitos do exercício sobre o DNA dependem da duração e do grau de exercício, uma vez que exercícios moderados, agudos ou prolongados não produzem danos no DNA (Demibarg et al., 2006). Além disso, o efeito do exercício regular está descrito na literatura por melhorar tanto as defesas antioxidantes quanto o aumento da eficiência metabólica, melhorando o estado funcional geral do organismo (Paik et al., 2009).

Nas avaliações referentes a genotoxicidade através do EC o grupo alimentado com DC e praticante de EFV durante toda sua vida, foi estatisticamente diferente do do grupo DC sedentário, dessa forma, observa-se que a prática de exercício voluntário foi antigenotóxica. Além disso, observou-se uma tendência na diminuição do número de micronúcleos neste grupo, atenuando os danos causadas pela dieta rica em alimentos fast food. A mudança de hábitos, que foi estudada através dos grupos DC | DP + EFV e DC | DP foi eficaz em reverter a genotoxicidade e a mutagenicidade causada pela DC durante as primeiras quatorze semanas de estudo, uma vez que esses dois grupos alimentaram-se com ração padrão e praticaram ou não EFV durante as últimas quatro semanas do experimento.

Estudo utilizando o EC em linfócitos de mulheres idosas obesas, investigou o efeito de uma intervenção regular de exercícios aeróbicos sobre os danos no DNA. O resultado mostrou que após a intervenção, o grupo exercício apresentou uma diminuição significativa no tail intensity, parâmetro avaliativo do EC. Outro resultado

que os autores encontraram foi uma diminuição significativa nos índices relacionados à obesidade, tais como peso, IMC, gordura corporal e circunferência abdominal no grupo exercício (Cho e Roh, 2016). Isso explica a diminuição nos danos ao DNA encontrados no presente estudo, uma vez que a redução das alterações causadas pela obesidade, avaliadas através do índice de adiposidade e glicemia de jejum foram significativamente diferentes ao final do experimento, assim, a diminuição desses fatores contribuiu para diminuir o dano ao DNA nas células sanguíneas dos animais obesos. Esse resultado corrobora com pesquisas anteriores que mostraram redução no dano ao DNA, avaliados também pelo EC, após treinamento com exercícios aeróbicos (Paik et al., 2009, Pittaluga et al., 2015).

Na literatura, o treinamento físico tem sido relacionado com uma regulação positiva das defesas antioxidantes, que leva à melhora geral da resposta celular ao estresse oxidativo e indução e reparo de danos ao DNA (Ji, 2002). De uma forma geral o EFV apresentou efeitos benéficos aos animais alimentados com DC, rica em carboidratos, sal e sódio, avaliados através de ensaios genotóxicos, bioquímicos e índice de adiposidade.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo forneceu evidências de que a utilização de uma dieta cafeteria hiperglicídica e hipercalórica, usada como indutora de obesidade, foi eficaz em alterar padrões bioquímicos (glicemia de jejum e resistência à insulina) e índice de adiposidade, bem como induzir à genotoxicidade e mutagenicidade. O exercício físico voluntário foi capaz de diminuir a glicemia de jejum dos animais, porém não foi suficiente para reverter a resistência insulínica dos mesmos, sugere-se que um tempo maior da prática de exercício pode resultar na reversão deste quadro; foi eficaz também em reduzir o índice de adiposidade dos animais. Referente aos testes genotóxicos, este trabalho demonstrou que o exercício físico voluntário apresentou atividade antígeno-tóxica e antimutagênica nos tecidos estudados.

REFERÊNCIAS

Amati F, Dube JJ, Shay C, Goodpaster BH. Separate and combined effects of exercise training and weight loss on exercise efficiency and substrate oxidation. *J Appl Physiol*. 2008;105:825–831.

American College of Sports Medicine. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

Amirkhizi F, Siassi F, Minaie S, Djalali M, Rahimi A, Chamari M. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidation and oxidative stress in women? *ARYA Atheroscler J*. 2007;2:189–192.

Anderson JW, Konz EC, Frederich RC, Wood CL. Long-term weight-loss maintenance: a metaanalysis of US studies. *Am J Clin Nutr*. 2001;74:579–584.

Apelt N, da Silva AP, Ferreira J, Alho I, Monteiro C, Marinho C, Teixeira P, Sardinha L, Laires MJ, Mascarenhas MR, Bicho MP. ACP1 genotype, glutathione reductase activity, and riboflavin uptake affect cardiovascular risk in the obese. *Metabolism*. 2009;58:1415–1423.

Bays HL, Mandarino L, DeFronzo RA. Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: Peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutic approach. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004;89:463–478.

Beaudry JL, Dunford EC, Leclair E, Mandel ER, Peckett AJ, Haas TL, Riddell MC. Voluntary exercise improves metabolic profile in high-fat fed glucocorticoid-treated rats. *J Appl Physiol (1985)*. 2015;118:1331–1343.

Beaudry JL, Riddell MC. Effects of glucocorticoids and exercise on pancreatic beta-cell 674 function and diabetes development. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28:560-573.

Berthoud HR. The neurobiology of food intake in an obesogenic environment. *Proc Nutr Soc.* 2012;71:478–487.

Bloomer RJ. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. *Adv Clin Chem.* 2008;46:1–50.

Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH. Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake. *Gend. Med.* 2008;5:218–228.

Boersma GJ, Barf RP, Benthem L, van Dijk G, Scheurink AJ. Forced and voluntary exercise counteract insulin resistance in rats: the role of coping style. *Horm Behav.* 2012;62:93–98.

Booth A, Magnuson A, Fouts J, Foster M. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015;21:57–74.

Burr J, Rowan C, Jamnik R, Riddell MC. Physical Activity Targets Multi-Organ Dysfunction in Pre-diabetes to Prevent Diabetes. In press. 2009;682.

Burr JF, Rowan CP, Jamnik VK, Riddell MC. The role of physical activity in type 2 diabetes prevention: physiological and practical perspectives. *Phys Sports Med.* 2010;38:72-82.

Cadeddu C, Nocco S, Lucia C, Deidda M, Bina A, Fabio O, Bandinu S, Cossu E, Baroni MG, Mercurio G. Effects of metformin and exercise training, alone or in association, on cardiopulmonary performance and quality of life in insulin resistance patients. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:93.

Campbell JE, Rakhshani N, Fediuc S, Bruni S, Riddell MC. Voluntary wheel running initially increases adrenal sensitivity to adrenocorticotrophic hormone, which is attenuated with long-term training. *J Appl Physiol.* 2009;106:66–72.

Castell-Auvi A, Cedo L, Pallares V, Blay M, Ardévol A, Pinent M. The effects of a cafeteria diet on insulin production and clearance in rats. *Br J Nutr.* 2012;108:1155–1162.

Cho SY, Roh T. Effects of aerobic exercise intervention on serum cartilage oligomeric matrix protein levels and lymphocyte dna damage in obese elderly females. *J Phys Ther Sci.* 2016;28:1892–1895.

Carillon J, Romain C, Bardy G, Fouret G, Feillet-Coudray C, Gaillet S, Lacan D, Cristol JP, Rouanet JM. DCeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med.* 2013; 65:254-61.

Carvalho, PR. Aditivos dos alimentos. *Revista LOGOS.* 2005; 12:57 - 69.

Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papademetriou L, Economou M, Stefanadis C. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: The ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007;17:590–597.

Coletti D, Berardi E, Aulino P, Rossi E, Moresi V, Li Z, Adamo S. Substrains of inbred mice differ in their physical activity as a behavior. *Sci World J.* 2013;2013:237260.

Collins A, Dusinská M, Franklin M, Somorovská M, Petrovská H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Raslová K, Vaughan N. Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environ Mol Mutagen.* 1997;30:139-146.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996;334:292-295.

Constantin-Teodosiu D. Regulation of muscle pyruvate dehydrogenase complex in insulin resistance: effects of exercise and dichloroacetate. *Diabetes Metab J.* 2013;37:301–314.

Cunha MP, Oliveira A, Pazini FL, Machado DG, Bettio LE, Budni J, Aguiar AS Jr, Martins DF, Santos AR, Rodrigues AL. The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45:851–859.

De Bono JP, Adlam D, Paterson DJ, Channon KM. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006;290:926-934.

DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture. *Diabetologia* 2009;53:1270–1287.

Delghingaro-Augusto V, Decary S, Peyot ML, Latour MG, Lamontagne J, Paradis-Isler N, Lacharite-Lemieux M, Akakpo H, Birot O, Nolan CJ, Prentki M, Bergeron R. Voluntary running exercise prevents beta-cell failure in susceptible islets of the Zucker diabetic fatty rat. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 2012;302:E254-264.

De la Monte SM, Longato L, Tong M, Wands JR. Insulin resistance and neurodegeneration: roles of obesity, type 2 diabetes mellitus and non alcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Investig Drugs.* 2009; 10(10):1049-60.

Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Celik H, Guzel S, Selek S, Kocyigit A. DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *Int J Clin Pract.* 2006;60:1187–1193.

Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Celik H, Guzel S, Selek S. DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *Int J Clin Pract.* 2006;60:1187-1193.

Dinçer Ş, Altan M, Terzioğlu D, Uslu E, Karşıdağ K, Batu Ş, Metin G. Effects of a regular exercise program on biochemical parameters of type 2 diabetes mellitus patients. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2016;56:1384-1391.

Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GX, Burneiko RC, Cicogna AC, Novelli EL. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition*. 2005; 21(6):749-55.

Diniz YS, Fernandes AA, Campos KE, Mani F, Ribas BO, Novelli EL. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food Chem Toxicol*. 2004; 42(2):313-19.

Drewnowski A, Darmon N. The economics of obesity: dietary energy density and energy cost. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:265S-273S.

Duffey KJ, Gordon-Larsen P, Steffen LM, Jacobs DR Jr, Popkin BM. Regular consumption from fast food establishments relative to other restaurants is differentially associated with metabolic outcomes in young adults. *J Nutr*. 2009;139:2113–2118.

Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Jukic VL, Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007;13:4539–4550.

Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A, Kaye D, Esler M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. *Hypertension*. 2003; 41(5):1072-9.

Elwakkad A, Hassan NM, Sibaii H, El-Zayat S, Sherif L, Hameed ERA, Shaheed AA. Relationship between obesity and 8-hydroxy-2-deoxy guanosine as an oxidative marker in obese adolescents of Giza. *J Med Sci*. 2011;11:231–235.

El-Wahab HM, Moram GS. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicol Ind Health*. 2013; 29(2):224-32.

Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller Do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004;20:218–224.

Fediuc S, Campbell JE, Riddell MC. Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats. *J Appl Physiol*. 2006;00:1867–1875.

Fiuza-Luces C, Garatachea N, Berger NA, Lucia A. Exercise is the real polypill, *Physiology (Bethesda)*. 2013;5:330–358.

Food Ingredients Brasil. Dossiê Corantes. São Paulo: FIB; 2009.

Foster MT, Warne JP, Ginsberg AB, Horneman HF, Pecoraro NC, Akana SF, Dallman MF. Palatable foods, stress, and energy stores sculpt corticotropin-releasing factor, adrenocorticotropin, and corticosterone concentrations after restraint. *Endocrinology*. 2009;150:2325–2333.

Friedman JM. A tale of two hormones. *Nat Med*. 2010;16:1100–1106.

Frank SIR, Boeira JM, Erdtmann B, JAP Henriques. Genotoxicidade de agentes sintéticos e naturais, In: J Silva, B Erdtmann, JAP Henriques. *Genética toxicológica*. Alcance: Porto Alegre; 2003. p. 309-317.

Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Jour of Clin Inv*. 2004;114:1752-1761.

Gandhi G, Kaur G. Assessment of DNA damage in obese individuals. *Res J Biol*. 2012;02:37-44.

Goldsmith R, Joannis DR, Gallagher D, Pavlovich K, Shamon E, Leibel RL, Rosenbaum M. Effects of experimental weight perturbation on skeletal muscle

work efficiency, fuel utilization, and biochemistry in human subjects. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol.* 2010;298:R79–R88.

Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344:721-724.

Hamburg NM, McMackin CJ, Huang AL, Shenouda SM, Widlansky ME, Schulz E, Gokce N, Ruderman NB, Keaney JF Jr, Vita JA. Physical inactivity rapidly induces insulin resistance and microvascular dysfunction in healthy volunteers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2650–2656.

Hartmann A, Pfuhler S, Dennog C, Germadnik D, Pilger A, Speit G. Exercise-Induced DNA Effects in Human Leukocytes Are Not Accompanied by Increased Formation of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine or Induction of Micronuclei. *Free Radic Biol Med.* 1998;24:245-251.

Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health: Updated recommendation for adults from the american college of sports medicine and the american heart association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:1423–1434.

Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015;33:673–689.

Hu FB. Resolved: There is sufficient scientific evidence that decreasing sugar-sweetened beverage consumption will reduce the prevalence of obesity and obesity-related diseases. *Obes Rev.* 2013;14:606–619.

Ishi KS. Obesity Prevention. In: Yamaji K. *An Understanding of Adolescent Body and Mind.* Tokyo: Ichimura Publisher; 2005:115–126.

Ji LL. Exercise induced modulation of antioxidante defense. *Ann N Y Acad Scis.* 2002;959:82–92.

Jaworowska A, Blackham T, Davies IG, Stevenson L. Nutritional challenges and health implications of takeaway and fast food. *Nutr Rev.* 2013;71:310-318.

Kant AK. Consumption of energy-dense, nutrient-poor foods by adult Americans: nutritional and health implications. The third national health and nutrition examination survey, 1988–1994. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:929-936.

Karaman A, Aydın H, Geçkinli B, Çetinkaya A, Karaman S. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;782:30–35.

Khan N, Naz L, Yasmeen G. Obesity: An independent risk factor systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci.* 2006;19:62–69.

Krishna G, Hayashi M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutat Res.* 2000;455:155-166.

Krishnan S, Coogan PF, Boggs DA, Rosenberg L, Palmer JR. Consumption of restaurant foods and incidence of type 2 diabetes in African American women. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:465–471.

Kumar S, Alagawadi KR, Rao MR. Effect of *Argyreia speciosa* root extract on DCeteria diet-induced obesity in rats. *Indian J Pharmacol.* 2011;43:163–167.

Lakka TA, Laaksonen DE. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007;32:76–88.

Leffa DD. Efeito corretivo do consumo dos sucos de Acerola (*Malpighia emarginata* dc.) sobre parâmetros bioquímicos e genotóxicos em camundongos alimentados com uma dieta cafeteria. [Tese de doutorado]. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2013.

Leffa DD, da Silva J, Daumann F, Dajori AL, Longaretti LM, Damiani AP, de Lira F, Campos F, Ferraz Ade B, Côrrea DS, de Andrade VM. Corrective effects of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juice intake on biochemical and genotoxic parameters in mice fed on a high-fat diet. *Mutat Res.* 2014;770:144-152.

Leiter LA, Lewanczuk RZ. Of the renin-angiotensin system and reactive oxygen species Type 2 diabetes and angiotensin II inhibition. *Am J Hypertens.* 2005;18:121–128.

Lenard NR, Berthoud HR. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16:S11–S22.

Liang KY, Mintun MA, Fagan AM, Goate AM, Bugg JM, Holtzman DM, Morris JC, Head D. Exercise and Alzheimer's disease biomarkers in cognitively normal older adults. *Ann Neurol.* 2010;68:311–318.

Luperini BC, Almeida DC, Porto MP, Marcondes JP, Prado RP, Rasera I, Oliveira MR, Salvadori DM. Gene polymorphisms and increased DNA damage in morbidly obese women. *Mutat Res.* 2015;776:111-117.

Ma H, Torvinen S, Silvennoinen M, Rinnankoski-Tuikka R, Kainulainen H, Morko J, Peng Z, Kujala UM, Rahkila P, Suominen H. Effects of Diet-Induced Obesity and Voluntary Wheel Running on Bone Properties in Young Male C57BL/6J Mice. *Calcif Tissue Int.* 2010;86:411–419.

Macedo IC, Freitas JS, Torres ILS. The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016:1-7.

Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One.* 2013;8:60407.

Mavournin KH, Blakey DH, Cimino MC, Salamone MF, Heddle JA. The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report

of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res.* 1990;239:29-80.

Medeiros C, Frederico MJ, Luz G, Pauli JR, Silva ASR, Pinho RA, Velloso LA, Ropelle ER, De Souza CT. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. *J Cell Physiol.* 2011;226:666–674.

Ministério da Saúde - Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

Mul JD, Soto M, Cahill ME, Ryan RE, Takahashi H, So K, Zheng J, Croote DE, Hirshman MF, Fleur SE, Nestler EJ, Goodyear LJ. Voluntary wheel running promotes resilience to chronic social defeat stress in mice: a role for nucleus accumbens Δ FosB. *Neuropsychopharmacology.* 2018;0:1–1.

Muller AP, Gnoatto J, Moreira JD, Zimmer ER, Haas CB, Lulhier F, Perry ML, Souza DO, Torres-Aleman I, Portela LV. Exercise increases insulin signaling in the hippocampus: Physiological effects and pharmacological impact of intracerebroventricular insulin administration in mice. *Hippocampus.* 2011;21:1082–1092.

Nagatomo F, Fujino H, Kondo H, Kouzaki M, Gu N, Takeda I, Tsuda K, Ishihara A. The effects of running exercise on oxidative capacity and PGC-1 α mRNA levels in the 789 soleus muscle of rats with metabolic syndrome. *J. Physiol Sci.* 2012;62:105-114.

Nakamoto H, Kaneko T, Tahara S, Hayashi E, Naito H, Radak Z, Goto S. Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and

modulates the DNA repair activity in the liver of old rats. *Exp Gerontol.* 2007;42:287–295.

O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev.* 2015;16:1-12.

Paik IY, Jin CH, Jin HE, Kim YI, Cho SY, Roh HT, Suh AR, Suh SH. Effects of the NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism on endurance exercise performance and oxidative DNA damage in response to aerobic exercise training. *Mol Cells.* 2009;27:557–562.

Park Y, Booth FW, Lee S, Laye MJ, Zhang C. Physical activity opposes coronary vascular dysfunction induced during high fat feeding in mice. *J Physiol.* 2012;590:4255–4268.

Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, Dandona P. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor- κ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4476–4479.

Patel H, Alkhwam H, Madanieh R, Shah N, Kosmas CE, Vittorio TJ. Aerobic vs anaerobic exercise training effects on the cardiovascular system. *World J Cardiol.* 2017;9:134-138.

Polônio MLT, Peres F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. *Cad Saúde Pública.* 2009; 25(8):1653-66.

Pereira BC, Pauli JR, Antunes LMG, Freitas EC, Almeida MR, Venâncio VP, Ropelle ER, Souza CT, Cintra DE, Papoti M, Silva ASR. Overtraining is associated with DNA damage in blood and skeletal muscle cells of Swiss mice. *BMC Physiology.* 2013;13:11.

Pittaluga M, Sgadari A, Dimauro I, Tavazzi B, Parisi P, Caporossi D. Physical exercise and redox balance in type 2 diabetics: effects of moderate training

on biomarkers of oxidative stress and DNA damage evaluated through comet assay. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:981242.

Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Ver*. 2008;7:34–42.

Ribeiro Filho FF, Mariosa SL, Ferreira GRS, Zanella TM. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais que uma simples Associação. São Paulo. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. Vol. 50. Num. 2. 2006. p. 25 – 34.

Richardson DK, Kashyap S, Bajaj M, Cusi K, Mandarino SJ, Finlayson J, Defronzo RA, Jenkinson CP, Mandarino LJ. Lipid infusion decreases the expression of nuclear encoded mitochondrial genes and increases the expression of extracellular matrix genes in human skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005;53:1270–1287.

Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. *Compr Physiol*. 2013;3:1–58.

Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:3424-3427.

Rzheshevsky AV. Fatal “Triad”: Lipotoxicity, oxidative stress, and phenoptosis. *Biochemistry*. 2013;78:991–1000.

Salvadori A, Fanari P, Marzullo P, Codecasa F, Tovaglieri I, Cornacchia M, Brunani A, Luzi L, Longhini E. Short bouts of anaerobic exercise increase non-esterified fatty acids release in obesity. *Eur J Nutr*. 2014;53:243–249.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to highfat diet. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19:1109–1117.

Sanchis-Gomar F, Fiuza-Luces C, Lucia A. Exercise as the master polypill of the 21st century for the prevention of cardiovascular disease. *Int. J. Cardiol.* 2015;181:360–361.

Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron.* 2002;36:199–211.

Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res.* 2002; 519(1-2):103-19

Scarpato R, Verola C, Fabiani B, Bianchi V, Saggese G, Federico G. Nuclear damage in peripheral lymphocytes of obese and overweight Italian children as evaluated by the γ -H2AX focus assay and micronucleus test. *The FASEB Journal.* 2011;25:685-693.

Scheele C, Nielsen S, Pedersen BK. ROS and myokines promote muscle adaptation to exercise. *Trends Endocrinol. Metab.* 2009;20:95-99.

Setayesh T, Nersesyan A, Mišák M, Ferk F, Langie S, Andrade VM, Haslberger A, Knasmüller S. Impact of obesity and overweight on DNA stability: Few facts and many hypotheses. *Mutat Res – Rev Mutat.* 2018;777:64-91.

Shafat A, Murray B, Rumsey D. Energy density in DCheteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite.* 2009;52:34–38.

Shehzad A, Khan S, Sup Lee Y. Curcumin molecular targets in obesity and obesity-related cancers. *Future Oncol.* 2012; 8(2):179-90.

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 1988;175:184-191.

Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol*. 2011;96:179–193.

Soares JP, Silva AM, Oliveira MM, Peixoto F, Gaivão I, Mota MP. Effects of combined physical exercise training on DNA damage and repair capacity: role of oxidative stress changes. *AGE*. 2015;37:9799.

Soares MB, Ramalho JB, Izaguirry AP Pavin NF, Spiazzi CC, Schimidt HL, Mello-Carpes PB, Santos FW. Comparative effect of *Camellia sinensis* teas on object recognition test deficit and metabolic changes induced by DCeteria diet. *Nutr Neurosci*. 2017:1-10.

SVS/MS. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 540, de 27 de outubro de 1997. - Diário Oficial da União.

Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. *Prog Cardiovasc Dis*. 2014;6:441–447.

Tatsch E, Bochi GV, Piva SJ, De Carvalho JA, Kober H, Torbitz VD, Duarte T, Signor C, Coelho AC, Duarte MM, Montagner GF, Da Cruz IB, Moresco RN. Association between DNA strand breakage and oxidative, inflammatory and endothelial biomarkers in type 2 diabetes. *Mutat Res*. 2012;732:16–20.

Taylor RS, Brown A, Ebrahim S, Jolliffe J, Noorani H, Rees K, Skidmore B, Stone JA, Thompson DR, Oldridge N. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med*. 2004;116:682-692.

Tereshin EV. A role of fatty acids in the development of oxidative stress in aging. A hypothesis. *Adv Gerontol*. 2007;20:59–65.

Terra X, Pallarés V, Ardèvol A, Bladé C, Fernández-Larrea J, Pujadas G, Salvadó J, Arola L, Blay M. Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats. *J Nutri Biochem*. 2011;22:380–387.

Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu, J. C.; Sasaki, Y. F. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environ Mol Mutagen*. 2000; 35(3):206-21.

Tomasello B, Malfa G, Galvano F, Renis M. DNA damage in normal-weight obese syndrome measured by Comet assay. *Med J Nutrition Metab*. 2011;4:99-104.

Unger RH. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes*. 1995;44:863–870.

van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*. 2005;25:8680–8685.

Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes*. 2006; 30(3):400-18.

Vilela TC, Muller AP, Damiani AP, Macan TP, da Silva S, Canteiro PB, de Sena Casagrande A, Pedroso GDS, Nesi RT, de Andrade VM, de Pinho RA. Strength and Aerobic Exercises Improve Spatial Memory in Aging Rats Through Stimulating Distinct Neuroplasticity Mechanisms. *Mol Neurobiol*. 2017;54:7928-7937.

Vanzela EC, Ribeiro RA, de Oliveira CA, Rodrigues FB, Bonfleur ML, Carneiro EM, Souza KL, Boschero AC. Pregnancy restores insulin secretion from pancreatic islets in cafeteria diet-induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;298:R320–R328.

Wahid A, Manek N, Nichols M, Kelly P, Foster C, Webster P, Kaur A, Friedemann Smith C, Wilkins E, Rayner M, Roberts N, Scarborough P. Quantifying the

Association Between Physical Activity and Cardiovascular Disease and Diabetes: A Systematic Review and Meta Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2016;5:e002495.

Wajchenberg BL, Santomauro ATMG, Nery M, Santos RF, Silva MELR, Ursich MJM, Rocha DM. Resistência à Insulina: Métodos Diagnósticos e Fatores que Influenciam a Ação da Insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 1999;43:76-85.

Wang J, Chen C, Wang RY. Influence of short- and long-term treadmill exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of obese rats. *Endocrine.* 2008;33:77–83.

Wegner M, Helmich I, Machado S, Nardi AE, Arias-Carrion O, Budde H. Effects of Exercise on Anxiety and Depression Disorders: Review of Meta-Analyses and Neurobiological Mechanisms. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014; 13:1002-1014.

Organização Mundial de Saúde. Obesidade e sobrepeso. 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>> acessado dia 20 de fevereiro de 2019>.

Xu Q, Park Y, Huang X, Hollenbeck A, Blair A, Schatzkin A, Chen H. Physical activities and future risk of Parkinson disease. *Neurology.* 2010;75:341–348.

Yau SY, Lau BW, Zhang ED, Lee JC, Li A, Lee TM, Ching YP, Xu AM, So KF. Effects of voluntary running on plasma levels of neurotrophins, hippocampal cell proliferation and learning and memory in stressed rats. *Neuroscience.* 2012;222:289–301.

Zeeni N, Dager-Hamalian C, Dimassi H, Faour WH. Cafeteria diet-fed mice is a pertinent model of obesity-induced organ damage: a potential role of inflammation. *Inflamm Res.* 2015;64:501–512.

Zhang Q, Wang Y. Trends in the association between obesity and socioeconomic status in U.S. adults: 1971-2000. *Obesity.* 2012;12:1622-1632.

APÊNDICE A – CARTA DE ACEITE DO CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNESC, em reunião de **11/12/2018**.

Título do projeto	Avaliação da prática do exercício físico voluntário sobre parâmetros comportamentais, bioquímicos e genotóxicos em camundongos alimentados com uma dieta cafeteria.
Project title	Evaluation of the voluntary physical exercise on behavior, biochemical and genotoxic parameters in mice fed a cafeteria diet.
Número do protocolo Protocol number	025/2018-2 versão 3
Pesquisador principal Principal Investigator	Vanessa Moraes de Andrade
Pesquisadores Researchers	Giulia Strapazon, Ângela Caroline da Luz Beretta, Gabriel Paulino Luiz, Isadora de Oliveira Monteiro, Luiza Martins Longaretti, Marina Lummertz Mageniz e Natalia Martins Rossa.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	19/12/2018 a 27/03/2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogênico / Swiss
No de animais	72
Idade/Peso	30 dias / 30g
Gênero	Masculino
Origem	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

**Samira da Silva
Valvassori**
Coordenadora do CEUA

Criciúma, 11 de Dezembro de 2018.