

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

DAIANE DIDEK

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE LIRAGLUTIDA EM RATOS OBESOS
SEDENTÁRIOS E EXERCITADOS

PONTA GROSSA

2018

DAIANE DIDEK

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE LIRAGLUTIDA EM RATOS OBESOS
SEDENTÁRIOS E EXERCITADOS

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Ciências da Saúde pela
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Dionizia Xavier
Scomparin.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Claudia
Garabeli Cavalli Kluthcovsky

PONTA GROSSA

2018

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

D555 Didek, Daiane
Efeitos da administração de liraglutida em ratos obesos sedentários e exercitados/
Daiane Didek. Ponta Grossa, 2018.
48f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Atenção Interdisciplinar em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof^a Dr^a Dionizia Xavier Scomparin.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Ana Claudia Garabeli Cavalli Kluthcovsky.

1.Dieta de cafeteria. 2.Exercício físico. 3.GLP-1. 4.Liraglutida. 5.Obesidade. I.Scomparin, Dionizia Xavier. II. Kluthcovsky, Ana Claudia Garabeli Cavalli. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciências da Saúde. IV. T.

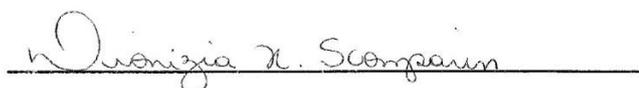
CDD: 613.25

DAIANE DIDEK

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE LIRAGLUTIDA EM RATOS
OBESOS SEDENTÁRIOS E EXERCITADOS

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Concentração Atenção Interdisciplinar em Saúde.

Ponta Grossa, 23 de março de 2018.



Profa. Dra. Dionizia Xavier Scomparin - Orientadora
Doutora em Ciências Biológicas
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Profa. Dra. Sabrina Grassioli
Doutora em Ciências Biológicas
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso
Doutor em Análises Clínicas
Universidade Estadual de Ponta grossa

Dedico este trabalho a Deus e a minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora por serem meu ponto de apoio e fé, permitindo que tudo isso acontecesse.

Aos meus pais Roberto e Roseli por me ensinarem os valores fundamentais da vida e batalharem tanto para que eu pudesse chegar até aqui. Aos meus irmãos Cristina e Rodrigo, minha cunhada Jucelene por sempre estarem ao meu lado e compreenderem minhas ausências nestes últimos dias e ao meu sobrinho Marcelo por ter me presenteado com imensa felicidade apenas por existir.

À minha querida orientadora Prof.^a Dra. Dionizia Xavier Scomparin pela oportunidade, apoio e confiança, sempre me mostrando o caminho correto a ser seguido, de forma única admirável e exemplar.

A Prof.^a Dra. Ana Claudia pelo importante direcionamento e colaboração no início da minha trajetória no mestrado.

À minha colega de mestrado Maiara Mikuska Cordeiro pelo incentivo, amizade e pelo apoio constante.

A todos os integrantes do projeto, pelo trabalho em equipe e pelo aprendizado mútuo adquirido de forma interdisciplinar, em especial aos alunos de iniciação científica que muito colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, pela contribuição em minha vida acadêmica.

Ao meu namorado Lucas Santiago de Oliveira ouvinte atento de algumas dúvidas, desânimos e sucessos, pelo amor, confiança e apoio em todas as minhas decisões.

Aos meus amigos pelas dores e alegrias compartilhadas, em especial a minha querida amiga Amanda Cristiane de Araújo pelo apoio desde o início desta caminhada.

A Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná (FA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos e auxílio financeiro que possibilitou a dedicação integral ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

Toda forma de saber nasce de um não saber.

(Padre Fábio de Melo)

RESUMO

A liraglutida é um análogo do peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), já utilizada comercialmente para o tratamento da *Diabetes mellitus tipo 2*, que também mostra resultados na redução da ingestão alimentar e consequente redução do peso corporal. A associação do exercício físico com a liraglutida pode ser um importante meio de controle do metabolismo lipídico e ocasionalmente tratamento de alterações metabólicas como a obesidade. O objetivo do nosso trabalho foi avaliar o efeito da liraglutida, análogo do GLP-1 associado ao exercício físico nos parâmetros metabólicos, bioquímicos e antropométricos de ratos normais e obesos, induzidos por dieta de cafeteria. O experimento iniciou-se aos 21 dias de vida dos animais, estes foram divididos em oito grupos: Quatro controles (CON) recebendo ração padrão e água *ad libitum*; quatro obesos (OBESO) recebendo a dieta de cafeteria *ad libitum*, adicionada a dieta padrão; subdivididos em (CON LIRA e OBESO LIRA) recebendo injeções subcutâneas de liraglutida dos 80 aos 90 dias de vida; (CON EXE LIRA e OBESO EXE LIRA) com intervenção da liraglutida e submetidos a natação por 15 minutos, três dias por semana e (CON EXE e OBESO EXE) somente com intervenção do exercício físico. Os resultados dos animais obesos demonstraram que a liraglutida reduziu, somente o consumo alimentar no final do experimento. O exercício físico mostrou melhores resultados na redução da gordura mesentérica, epididimal, retroperitoneal, níveis circulantes de glicose, índice de Lee, ganho de peso dos 80-90 dias de vida e aumentou o peso da glândula adrenal nos animais obesos, nos animais controle reduziu o peso do pâncreas, índice de Lee e colesterol total. A associação do exercício físico com a liraglutida apresentou melhores resultados na redução do peso corporal no final do experimento, redução do consumo dos 80-90 dias de vida, peso do fígado, níveis circulantes de triglicerídeos e insulina, índice HOMA-IR, nos animais obesos, porém aumentou o TNF- α nos animais obesos e controles. Concluímos que a intervenção com o exercício físico foi eficaz na redução de alguns parâmetros relacionados ao desenvolvimento da obesidade, porém a sua associação com a liraglutida por 10 dias mostra melhores resultados na redução do peso corporal, consumo alimentar e parâmetros bioquímicos, em animais obesos obtidos por dieta de cafeteria.

Palavras-chave: Dieta de Cafeteria. Exercício Físico. GLP-1. Liraglutida. Obesidade.

ABSTRACT

Liraglutide is an analog of the Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), already commercially used for the treatment of Type 2 Diabetes Mellitus, which also shows results in the reduction of food intake and consequent reduction of body weight. The association of physical exercise with liraglutide may be an important means of controlling lipid metabolism and, occasionally, the treatment of metabolic disorders such as obesity. The objective of our study was to evaluate the effect of liraglutide, GLP-1 analog associated with physical exercise on metabolic, biochemical and anthropometric parameters of normal and obese rats, induced by the cafeteria diet. The experiment started at the 21 days of life of the animals, which these divided into eight groups: Four controls (CON) receiving standard chow and water *ad libitum*; four obese (OBESO) receiving the cafeteria diet *ad libitum*, added to the standard diet. The animals were further subdivided into (CON LIRA and OBESO LIRA) receiving subcutaneous injections of liraglutide from 80 to 90 days of life; (CON EXE LIRA and OBESO EXE LIRA) with intervention of liraglutide and submitted to swimming for 15 minutes, three days a week and (CON EXE and OBESO EXE) only with physical exercise intervention. The results of obese animals show that liraglutide reduced only food intake at the end of experiment. The physical exercise show better results in the reduction of the mesenteric, epididymal, retroperitoneal fat pad, circulating levels of glucose, Lee index, weight gain from 80-90 days of life and increased adrenal gland weight in obese animals, in control animals reduced the weight of the pancreas, Lee index and total cholesterol. The association of exercise with liraglutide show better results in reducing body weight at the end of the experiment, food intake of the 80-90 days of life, liver weight, circulating levels of triglycerides and insulin, HOMA-IR index, in obese animals, but increased the TNF- α in obese and control animals. We conclude that the intervention with physical exercise was effective in reducing some parameters related to the development of obesity, but its association with liraglutide for 10 days show that better results in reducing body weight, food intake and biochemical parameters in obese animals obtained by cafeteria diet.

Keywords: Cafeteria Diet. Liraglutide. GLP-1. Obesity. Physical Exercise.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1	OBESIDADE.....	12
2.2	OBESIDADE E RESISTENCIA A INSULINA.....	12
2.3	DIETA DE CAFETERIA.....	13
2.4	EXERCÍCIO FÍSICO.....	14
2.5	PEPTÍDIO SEMELHANTE AO GLUCAGON -1 (GLP-1)	16
2.6	LIRAGLUTIDA.....	17
3	OBJETIVOS	19
3.1	OBJETIVO GERAL	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	20
4.2	PROTOCOLO DO EXERCÍCIO	21
4.3	DIETA	22
4.4	CONSUMO ALIMENTAR E CRESCIMENTO ANIMAL	23
4.5	DADOS BIOQUÍMICOS	23
5.5.1	FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α)	24
4.6	ÍNDICE DE LEE	24
4.7	ÍNDICE DE HOMA (HOMA-IR)	24
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5	RESULTADOS	25
6	DISCUSSÃO	33
7	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO CEUA.....	48

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), desde 1975 até o ano de 2016 os níveis de incidência da obesidade no mundo triplicaram. Neste mesmo ano, mais de 1,9 bilhões de adultos com 18 anos ou mais apresentavam sobrepeso, destes mais de 650 milhões eram obesos, quarenta e um milhões de crianças menores de 5 anos estavam com excesso de peso ou eram obesas e mais de 340 milhões de crianças e adolescentes de 5 a 19 anos apresentavam sobrepeso ou obesidade (OMS, 2017). A obesidade está entre as principais causas de mortes evitáveis e é um dos problemas de grande preocupação da saúde pública do século XXI (LOUZADA et al., 2013).

A prevalência de sobrepeso e da obesidade representa um risco substancial a saúde, acarretando outras comorbidades como *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), osteoporose, câncer, doença cardiovascular (DCV) entre outros (NG et al., 2014), tanto na obesidade quanto na DM2 há resistência à insulina, pois ocorre o comprometimento na sinalização de insulina que leva a um estado de hiperinsulinemia compensatória (PINTO JÚNIOR; SERAPHIM, 2012).

A obesidade também acarreta danos que levam a distúrbios no metabolismo lipídico, ocasionando alterações metabólicas denominadas de dislipidemias. As influências ambientais e genéticas contribuem grandemente para a epidemia atual da obesidade, porém a inatividade física e a dieta inadequada são os principais causadores (MONSEY; GERHARD, 2014).

Para o estudo da obesidade em modelos experimentais, a indução da obesidade em animais pela exposição a uma dieta rica em carboidratos e lipídeos, é um modelo amplamente utilizado que leva ao aumento em número e em tamanho das células adiposas. Essa dieta é comparada a alimentação em Fast-food e é conhecida como “Dieta de Cafeteria”, onde induz o animal a obesidade semelhante a encontrada em humanos (FONSECA-ALANIZ, 2006; PRADA et al., 2005). Em roedores sem mutação genética, como os ratos Wistar, o modelo de obesidade induzida por dieta demonstra ter eficácia comprovada na indução da obesidade e de complicações associadas (ROSINI; SILVA; MORAES, 2012).

Para melhor controle da obesidade e fatores associados, o exercício físico mostra eficácia comprovada na redução de peso de animais obesos, demonstrando também redução na concentração sérica de triglicerídeos e nos níveis de insulina,

menor gordura retroperitoneal e menor ganho de peso comparado aos animais sedentários (ESTADELLA et al., 2004). Para o controle da obesidade e dislipidemias, a alteração no estilo de vida com adequação na dieta e prática de exercício físico regular é necessário e de grande importância (ACCIOLY et al., 2016), principalmente por ser um método de baixo custo e não invasivo.

São muitos os esforços da comunidade científica para a compreensão da obesidade e o desenvolvimento de alternativas para a redução do ganho de peso dos pacientes obesos, porém a obesidade exige tratamento com a incorporação de medicamentos para o seu controle (CEFALU et al., 2015). Pesquisas estudam uma incretina que promete a redução do peso, o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), hormônio incretinal derivado do intestino, secretado pelas células L enteroendócrinas do íleo distal e do cólon. As concentrações plasmáticas de GLP-1 em jejum são baixas, porém após a refeição aumenta rapidamente. A infusão subcutânea do GLP-1 inibe a secreção de glucagon, melhora a capacidade de secreção de insulina, sensibilidade a insulina e promove a perda de peso (DRUCKER; NAUCK, 2006). O mecanismo de ação do GLP-1 para a estimulação da secreção de insulina ainda não é bem definido (CHACRA, 2013).

O GLP-1 nativo é degradado rapidamente e seus agonistas demonstram resistir a essa degradação, a administração de agonistas do GLP-1 é muito utilizado como estratégia terapêutica para o tratamento da DM2 e agora também é relatada como tratamento da obesidade. Desta forma, análogos sintéticos do GLP-1 são utilizados em pesquisas relacionadas a obesidade e diabetes. A liraglutida é um dos agonista do GLP-1 que apresenta o perfil farmacocinético similar ao da molécula de GLP-1, sua ação é prolongada e após uma única dose exibe todas as ações do GLP-1 (BAGGIO; DRUCKER, 2007).

Considerando a preocupação mundial com a obesidade, o aumento do peso e o aumento no consumo de alimentos altamente calóricos, é importante desenvolver formas de reduzir essa incidência, o uso de análogos do GLP-1 parece demonstrar resultados na redução do peso, se faz necessário a compreensão da sua ação na patologia da obesidade e como sua associação com o exercício físico, pode influenciar no controle da obesidade, ou na redução de fatores associados a essa patologia.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 OBESIDADE

Há tempos que a obesidade é considerada uma epidemia, impulsionada principalmente pelo aumento do consumo de alimentos de alto valor calórico e a redução do exercício físico. O tecido adiposo é uma mistura de adipócitos, pré-adipócitos, células imunes e endotélio, que responde de forma rápida e dinâmica as alterações no excesso de nutrientes através da hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos (KAUR, 2014).

A obesidade é a causa de muitas doenças e está associada a soma de várias anormalidades metabólicas como a resistência à insulina, falência das células beta pancreáticas, dislipidemia aterogênica e doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) (CEFALU et al., 2015; KAMALAKKANNAN et al., 2016). Sendo multifatorial e apresentando riscos à saúde, como o desenvolvimento de DCV, hipertensão, diabetes, depressão e até levar a morte antecipada (CONTE; CAMPOS, 2015).

A obesidade está relacionada com os padrões atuais de alimentação feitos por dietas com alto teor de gordura e carboidrato, que mobilizam e decompõe gordura de forma mais lenta que dietas com alto teor de proteína, por exemplo, resultando em aumento do peso e obesidade visceral, que é fortemente correlacionado com a resistência à insulina (CHEN et al., 2012).

2.2 OBESIDADE E RESISTÊNCIA A INSULINA

Uma dieta rica em gordura além de induzir a obesidade, altera os níveis da proteína-tirosina fosfatase 1B (PTP1B), regulador negativo da via de sinalização da insulina e altera a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) (SILVA et al., 2010). Camundongos que não expressam o IRS-1 ou tem alta expressão de PTP1B apresentam resistência à insulina (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002; SUN et al., 2016).

A resistência à insulina, presente também na DM2, envolve ainda o comprometimento do transportador de glicose 4 (GLUT-4) presente no músculo esquelético e no tecido adiposo (PINTO JÚNIOR; SERAPHIM, 2012). O organismo

obeso apresenta ácidos graxos circulantes em grandes quantidades, provenientes do tecido adiposo ou de lipoproteínas, estes também contribuem para a resistência à insulina, pois ao alcançar tecidos sensíveis a insulina, alteram a disponibilidade de substratos a sinalização (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005), dentro das células beta pancreáticas eles inibem a atividade do transportador de glicose, reduzindo a captação e a fosforilação da glicose (HABER et al., 2001). Tudo isso resulta em um quadro de resistência à insulina, também encontrado em modelos animais de resistência à insulina, que demonstraram redução na atividade da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), podendo desencadear o desenvolvimento da resistência à insulina e de anormalidades metabólicas (FUJII et al., 2008; RICHTER; RUDERMAN, 2009; YU et al., 2004). A sinalização de insulina tem papel importante no controle da ingestão de alimentos, ratos obesos que apresentam resistência à insulina na amígdala, também mostram inflamação e estresse oxidativo (CASTRO et al., 2013).

2.3 DIETA DE CAFETERIA

Para melhor compreender a obesidade, o modelo de dietas hipercalóricas vem sendo muito utilizado como forma de indução ao excesso de peso em animais, a dieta de cafeteria já é utilizada desde 1980, considerada como um padrão para análise do peso corporal de animais (ALMEIDA; SANTOS, 2015). A razão da utilização da dieta de cafeteria em vários estudos para indução da obesidade, deve-se ao fato do cardápio ser composto por alimentos consumidos em nosso dia a dia (salgadinho, chocolate, refrigerante de cola, bolachas) os quais possuem um alto teor de gordura e um alto índice glicêmico (PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHA JR., 2003).

Estudos sobre obesidade demonstram que a utilização da dieta de cafeteria em animais, pode induzir consumo excessivo de alimentos (hiperfagia), compulsividade, alterando o padrão alimentar, onde o animal prefere os alimentos mais palatáveis do que a dieta padrão, desencadeando respostas neuroadaptativas como recompensas cerebrais que se sobrepõem ao sistema homeostático relacionado ao consumo e demanda de energia, resultando em ganho de peso corporal (CIGARROA et al., 2016). Estudos que utilizam modelos de indução à obesidade mostram aumentar a adiposidade, gordura mesentérica, subcutânea e visceral, os níveis séricos de triglicerídeos e colesterol total (MACEDO et al., 2012). Além de maior acúmulo de gordura abdominal e aumento do peso do fígado (CAMERON et al., 2012).

Quando a oferta da dieta de cafeteria é precoce, pode interferir nos sinais de saciedade e promover um excessivo consumo ao longo da vida desse animal (MARTIRE et al., 2013). Induzindo obesidade e distúrbios metabólicos como a dislipidemia e estresse oxidativo nos animais, a inflamação parece estar associadas a obesidade e combinada com a resistência à insulina leva a um estado irreversível de anormalidade metabólica (CARILLON et al., 2013).

Estudos comparativos entre dietas de alto teor de gordura e a dieta de cafeteria, evidenciaram que a dieta de cafeteria é o melhor modelo para simular as tendências modernas da obesidade humana, pois fornece um modelo altamente relevante em termos de comparação com a dieta humana (SAMPEY et al., 2011). Shafat; Murray e Rumsey (2009), afirmam que a dieta de cafeteria é o melhor método para estudo da obesidade em animais, pois a partir do primeiro dia de apresentação ela estimula a hiperfagia e o ganho de peso é observado a partir do terceiro dia de dieta. Animais induzidos a dieta de cafeteria apresentam perfil metabólico da obesidade, demonstram ineficiência na beta oxidação, possível disfunção mitocondrial e níveis elevados de ácidos graxos saturados pró inflamatórios que causam deficiência funcionais nas células beta, hepatócitos e adipócitos (SAMPEY et al., 2012).

2.4 EXERCÍCIO FÍSICO

Organismos vivos alteram suas propriedades estruturais e funcionais de sistemas e órgãos de acordo com as condições ambientais impostas (BALDWIN, 2002). Portanto quando é imposto ao animal ou ser humano sessões de exercício físico, o organismo irá responder com a melhora e normalidade de fatores que muitas vezes foram desencadeados pela obesidade. O exercício físico tem grande relação com o controle de diabetes e obesidade, uma sessão de exercício físico agudo simples pode aumentar a sensibilidade à insulina em até 16 horas após o exercício, pois este modifica o conteúdo do GLUT4 nos tecidos dependentes de insulina como o tecido adiposo, e músculo em seres humanos (FARIAS, 2014). O aumento da tolerância a glicose e a melhora na sensibilidade a insulina estão relacionados com a maior transdução de sinal de insulina principalmente no músculo esquelético e fígado induzido pelo exercício físico (CALEGARI et al., 2011).

Em modelos animais verificou-se que diferentes intensidades de esforço podem desempenhar um papel importante no controle e alteração do metabolismo lipídico e ocasionalmente no tratamento de alterações metabólicas e resistência à insulina (RIBEIRO et al., 2012). Um dos mecanismo envolvidos na sinalização de insulina é a proteína serina/treonina quinase B/Akt, proteína distal da via molecular da insulina, que está envolvida na captação de glicose e na síntese de glicogênio muscular, em camundongos obesos induzidos por dieta hiperlipídica, a menor fosforilação dessa proteína levou a resistência à insulina, porém quando os animais foram submetidos ao exercício físico a fosforilação do Akt aumentou, comparado aos animais obesos que permaneceram sedentários (MARINHO et al., 2014).

O exercício físico também apresenta efeitos positivos sobre o estresse oxidativo, o treinamento de natação especificamente leva a perda de adiposidade e melhora no colesterol sérico em animais com alimentação de alto teor de gordura (VECHETTI-JUNIOR et al., 2012). Foi observado aumento dos níveis de AMPK em modelos animais obesos obtidos por dieta de cafeteria, submetidos a natação, com aumento de 43% após quatro semanas de intervenção (BRANDT et al., 2010). O exercício físico também reduz os níveis de PTP1B e de IRS-1 após uma única sessão, melhorando a sensibilidade a insulina em tecidos insulinosensíveis como o músculo e o fígado (SILVA et al., 2010).

Foi observado respostas ao exercício físico mesmo em animais submetidos a uma dieta rica em gordura, resultando na redução do peso corporal e do percentual de gordura, redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos, além de alterações no padrão de consumo alimentar. Os animais com alimentação padrão tem menor consumo alimentar do que animais com dietas de alto teor de gordura, porém animais obesos submetidos ao treinamento físico pelo menos duas vezes por semana apresentam redução do peso corporal (CHEIK et al., 2006).

Em camundongos obesos induzidos por dieta rica em gordura, o treinamento físico mostrou reverter o perfil lipídico sanguíneo, combater a inflamação e a resistência à insulina (FREITAS; CESCHINI; RAMALLO, 2014). Na literatura o treinamento de natação têm sido amplamente explorado pois possuem maior controle de variáveis e são de fácil aplicação (CASTOLDI et al., 2015). Além de explorar as propriedades de flutuação do animal, e o fato da viscosidade do meio líquido aumentar a resistência, atribuindo maior carga durante o exercício, sendo um exercício de

endurance, que mobiliza grande parte das articulações do corpo do animal, promovendo a utilização principalmente dos músculos da perna em particular o músculo sóleo (OLIVEIRA et al., 2014).

O protocolo de treinamento de natação com sobrecarga de 5% do peso corporal do animal, demonstra eficácia na redução do ganho de peso corporal e no teor de gordura em animais obesos (BRAGA et al., 2006). Quanto a intensidade do exercício físico, a intensidade moderada, demonstra ser um meio de tratamento e prevenção da obesidade, sendo capaz de impedir o desenvolvimento da obesidade mesmo em ratos programados para a obesidade (GOMES et al., 2012).

2.5 PEPTÍDEO SEMELHANTE AO GLUCAGON -1 (GLP-1)

A modificação na dieta e estilo de vida é o tratamento de primeira linha para a obesidade, mas por vezes, estes não proporcionam perda de peso sustentável. Para a redução do peso a longo prazo se faz necessário a introdução da intervenção farmacêutica (VAN CAN et al., 2014).

O peptídeo GLP-1 é formado por 31 aminoácidos, derivado das células L intestinais, liberado pelo sistema gastrointestinal, é responsável por quase metade da secreção total de insulina após a refeição. Ele inibe a apoptose de células beta, inibe a produção hepática de glicose e estimula a captação de glicose no tecido adiposo e muscular (MANSOUR et al., 2013). Foi encontrado nos grânulos citoplasmáticos de células pancreáticas beta e alfa de ratos normais e diabéticos, localizado junto com a insulina e o glucagon, essa co-localização de GLP-1 com insulina mostra uma relação morfológica íntima ao nível ultraestrutural entre os dois peptídeos, sugerindo que o GLP-1 tem papel de regulação do metabolismo da insulina (LOTFY et al., 2014).

O GLP-1 aumenta a secreção de insulina, suprime a secreção de glucagon, atrasa o esvaziamento gástrico e reduz a ingesta alimentar (PRATLEY et al., 2010). A disfunção no GLP-1 mostra ter implicação na obesidade, hipoglicemia reativa pós-prandial e DM2, além disso o comprometimento do GLP-1 pode ser o vínculo fisiopatológico entre DM2 e obesidade, uma vez que os níveis baixos de GLP-1 foram considerados um importante fator de risco para o DM2 (AHMED et al., 2017).

O GLP-1 é uma das mais potentes substâncias conhecidas por estimular a secreção de insulina induzida pela glicose, sua atividade de estimulação é exercida

através da ligação ao seu receptor em células beta. Esta ligação resulta na ativação da enzima Adenil ciclase (AC) com consequente produção de Monofosfato cíclico de Adenosina (cAMP) (PERUZZO, 2010) e ativação da proteína quinase dependente de cAMP (PKA) (SILVA et al., 2009). A ativação da PKA resulta na fosforilação da subunidade do canal receptor de sulfonilureia (SUR1) e canal de potássio sensível a ATP (KATP) através de um mecanismo dependente de ADP (REIS; VELHO, 2000), promovendo o fechamento, seguido da despolarização da membrana estimulando a via secretora de insulina (PORTHA; TOURREL-CUZIN; MOVASSAT, 2011). O GLP-1 também controla a síntese de glicogênio nas células musculares e promove saciedade, por isso é tão atraente como agente terapêutico (CANI et al., 2007).

Porém o GLP-1 é rapidamente degradado pela enzima dipeptidil peptidase-IV (DPPIV), com isso uma das estratégias farmacológicas é o uso de inibidores dessa enzima, que aumentam os níveis endógenos de GLP-1 e podem ser um poderoso agente anti-obesidade (CANI et al., 2007), no entanto a inibição do DPPIV parece ter efeito limitado, enquanto que os análogos do GLP-1 mostram melhores resultados na redução do peso corporal em animais (RAUN et al., 2007). O primeiro análogo conhecido é a Exenatide, que se origina na saliva do lagarto *Heloderma suspectum* (Monstro-de-Gila) e mostrou ser potente e de longa ação inibindo o esvaziamento gástrico e aumentando a sinalização central da saciedade, além de apresentar bons resultados no tratamento da DM2 (BAYS, 2004). Outro agonista do GLP-1 é a liraglutida (PRATLEY et al., 2010).

2.6 LIRAGLUTIDA

Os agonistas do GLP-1 estão cada vez mais disponíveis e são muito utilizados na redução do peso corporal, um dos agonistas mais conhecido e muito utilizado é a liraglutida (VICTOZA®) (BUYSSCHAERT; D'HOOGHE; PREUMONT, 2015), análogo do GLP-1 que tem afinidade com a albumina, a qual protege a liraglutida da rápida degradação enzimática, aumentando a sua meia-vida biológica, cerca de 13h, prometendo eficácia na promoção da perda peso (HYDE et al., 2017). A liraglutida foi desenvolvida para o controle da DM2, é sintetizada de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, por um processo de fermentação, recuperação e purificação da levedura com interação ao DNA recombinante. Atualmente o fármaco VICTOZA® não possui

nenhuma indicação para o uso na redução do peso em pacientes obesos, mas ela demonstra apresentar alguns resultados positivos na redução do peso de pacientes diabéticos, esta ação ainda está sendo discutidos pela comunidade científica (CONTE; CAMPOS, 2015).

A administração da liraglutida em pacientes obesos ou com sobrepeso, a uma dose diária de 3,0 mg utilizada como adjuvante de uma dieta com poucas calorias e aumento da atividade física mostrou redução do peso e redução nos fatores de risco cardiometabólicos (PI-SUNYER et al., 2015). Similarmente, em animais que recebem uma dieta rica em gorduras e carboidratos, a liraglutida demonstrou normalizar o peso corporal dentro de uma semana de tratamento e manteve o peso estável, além de reduzir a massa gorda, a ingestão calórica e normalizar a composição corporal dos animais dieta, ressaltando assim que o efeito da dieta foi revertido pela liraglutida (RAUN et al., 2007).

Atualmente o tratamento da obesidade é feito com a alteração no padrão alimentar e introdução da prática de exercício físico, já é de longa data que a comunidade científica estuda a redução da obesidade com o exercício físico, porém parece não ser o suficiente para redução dos casos de obesidade. Recentes investigações sugerem a inserção de análogos do GLP-1, no tratamento da obesidade. Todavia, a associação da liraglutida, análogo do GLP-1 com o exercício físico ainda não foi estudada, este pode ser um meio de alcançar melhores resultados na redução da obesidade e de fatores associados, de grande interesse para a população obesa.

3 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com a liraglutida, análogo do GLP-1, associado ao exercício físico induzido precocemente na modulação da obesidade em ratos obesos obtidos por dieta de cafeteria.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar alterações nas análises bioquímicas e antropométricas dos animais dos grupos obeso e controle;
- Quantificar e analisar o consumo alimentar e o ganho de peso de cada grupo durante todo o experimento;
- Verificar o peso de tecidos e órgãos dos animais para identificar possíveis alterações entre os grupos;
- Analisar as respostas inflamatórias desencadeadas pela dieta de cafeteria por meio da análise do TNF- α dos animais;
- Avaliar o efeito da administração da liraglutida por 10 dias associada ou não ao exercício físico sobre a obesidade induzida por dieta de cafeteria.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados no presente trabalho ratos machos da linhagem Wistar (*rattus norvegicus*, variabilidade albina), obtidos com 21 dias de vida do Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), onde permaneceram durante todo o experimento, mantidos em gaiolas plásticas coletivas (3 animais por gaiola) feitas de polipropileno com dimensões de 40 x 34 x 17 cm em cama de cepilho, controle de luminosidade de ciclo claro-escuro (12h claro: 12h escuro), ciclo escuro começando as 19:00h e término as 7:00h, temperatura controlada em 21 ± 3 °C. Durante todo o experimento os animais receberam ração comercial padrão Nuvilab (CR-1, NUVITAL®, Curitiba, PR, Brasil) e água *ad libitum*. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisas utilizando animais, da UEPG, protocolo CEUA número 027/2014.

Os animais foram randomicamente distribuídos em oito grupos n=10-12 animais (Figura 1): Quatro controles (CON) recebendo ração padrão e água *ad libitum*; quatro obesos (OBESO) recebendo a dieta de cafeteria *ad libitum*, adicionada a dieta padrão; subdivididos em (CON LIRA e OBESO LIRA) recebendo injeções subcutâneas de liraglutida dos 80 aos 90 dias de vida, dose de 0,0077mg/dia/animal, baseada na dose para humanos de 1,8mg; (CON EXE LIRA e OBESO EXE LIRA) com intervenção da liraglutida e submetidos a natação por 15 minutos, três dias por semana e (CON EXE e OBESO EXE) somente com intervenção do exercício físico.

Os animais foram submetidos a eutanásia, após serem pesados e mantidos em jejum por 12h, o procedimento utilizada para a eutanásia foi a decapitação por guilhotina, utilizado para facilitar a coleta de grandes volumes sanguíneos e para que não ocorresse nenhuma alteração nos resultados das análises bioquímicas dos animais. O sangue do tronco foi coletado e centrifugado em potência de 3000 rpm por 10 min, à temperatura ambiente. O soro obtido por centrifugação foi armazenado a -20 °C para a utilização posterior. Foi tomado o comprimento nasoanal para posterior cálculo do Índice de Lee, os animais foram abertos para a dissecação manual dos

órgãos, músculo sóleo, glândula adrenal e tecidos adiposos específicos (mesentérico, retroperitoneal, epididimal e interescapular) e pesados em balança analítica (Mod Q-500L210C, QUIMIS®) para posterior análise dos dados.

Figura 1: Divisão dos grupos Controle e Dieta de Cafeteria.

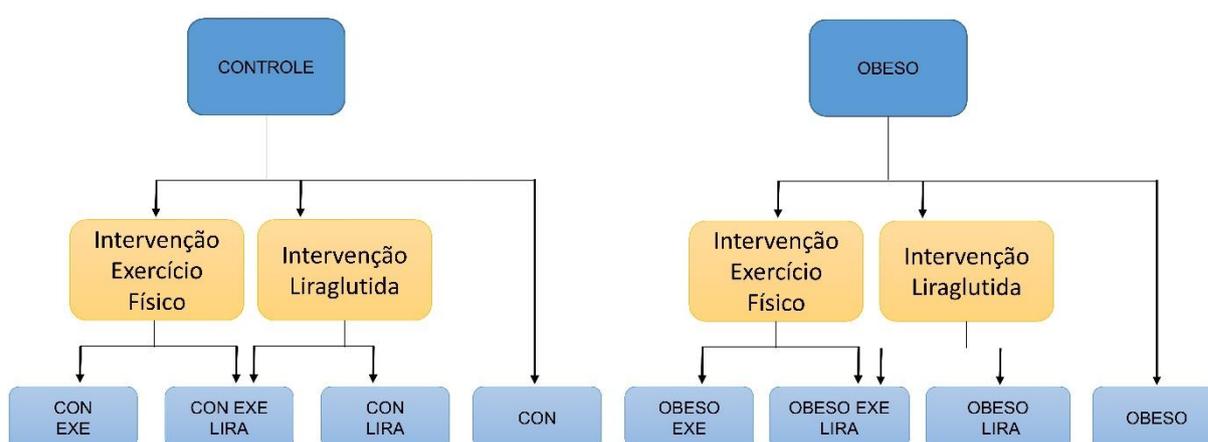


Figura 2: Linha do tempo com as etapas do experimento dos 21 aos 91 dias de vida dos animais.



4.2 PROTOCOLO DE EXERCÍCIO

O protocolo de treinamento físico utilizado foi a natação com sobrecarga, durante 9 semanas, 3 dias por semana, 15 minutos por dia em um tanque de concreto (69 cm x 69 cm x 73 cm altura) com água aquecida em $32 \pm 2^\circ\text{C}$ segundo o protocolo de Scomparin et al., (2006), com quantidade suficiente para que os animais não apoiassem a extremidade distal da cauda no fundo do tanque. Para garantir que os animais estivessem em constante atividade de natação foi utilizado a sobrecarga de 5% do peso corporal de cada animal, feito com pesos de chumbo que eram presos na região abdominal do animal, com um fio de nylon e permaneceram durante todo experimento, os animais foram pesados antes da natação onde foi feito o cálculo do peso adicional de cada animal, após o procedimento os animais foram secos com panos e colocados de volta em suas respectivas caixas.

4.3 DIETA

A dieta de cafeteria foi ofertada a partir dos 30 dias de vida do animal dos grupos CAF, *ad libitum* diariamente e foi agrupada em três combinações distintas que foram oferecidas alternadamente (QUADRO 1): Segunda (Dieta A) salgadinho sabor queijo, bolacha wafer sabor chocolate e refrigerante cola; Quarta (Dieta B) marshmallow, apresuntado e refrigerante cola; Sexta (Dieta C) salgadinho sabor bacon, bolacha maizena e refrigerante cola. Os animais do grupo controle recebiam somente a dieta padrão para roedores composta por pellets de ração e água *ad libitum*. Para calcular a ingestão alimentar, a quantidade de alimento ofertada e a quantidade de alimento não consumido pelos animais foram pesadas, três vezes por semana, em todos os grupos. A massa corporal dos animais também era registrada três vezes por semana em balança de precisão (Modelo BEL - engineering, BEL equipamentos Analíticos Ltda).

TABELA 1 – Cardápio oferecido aos animais (CAF) durante o experimento e seus respectivos valores nutricionais.

ALIMENTOS	CARDÁPIO A				
	Qtd (g)	Kcal/g	Carboidrato (g)	Proteína (g)	Lipídios (g)
RAÇÃO PADRÃO	1	2,95	0,55	0,22	0,04
SALGADINHO SABOR QUEIJO	1	3,92	0,72	0,08	0,09
BOLACHA WAFER DE CHOCOLATE	1	5,56	0,63	0,03	0,51
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00
CARDÁPIO B					
RAÇÃO PADRÃO	1	2,95	0,55	0,22	0,04
MARSHMALLOW	1	3,35	0,82	0,04	0,00
APRESUNTADO	1	1,85	0,07	0,13	0,16
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00
CARDÁPIO C					

	Qtd	Kcal/g	Carboidrato	Proteína	Lipídios
	(g)		(g)	(g)	(g)
SALGADINHO SABOR BACON	1	5,08	0,521	0,08	0,29
BOLACHA MAIZENA	1	4,30	0,73	0,07	0,12
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00

4.4 CONSUMO ALIMENTAR E CRESCIMENTO ANIMAL

Os animais de todos os grupos experimentais foram acompanhados 3 vezes por semana para avaliação do peso corporal e consumo alimentar, este último foi calculado através da subtração do alimento ofertado pela sobra, dividido pelo número de dias e pela quantidade de animais por caixa. Os dados de massa corporal foram expressos por gramas (g), já o consumo no caso do refrigerante cola, foi expresso em mililitros (ml) e os alimentos em (g) ou também em quilocalorias (KCAL), através da multiplicação da KCAL de cada alimento pela g/dia/animal ingerida.

4.5 DADOS BIOQUÍMICOS

O sangue coletado após a eutanásia foi centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos, o soro foi separado e armazenado a -20 °C até a posterior dosagem bioquímica. A dosagem de colesterol total, triglicerídeos e glicose, foram realizadas por espectrofotometria em analisador automatizado da marca *Mindray*® modelo BS-120. Foram utilizados reagentes para determinação quantitativa da marca *Analisa*® (Gold Analisa Diagnóstica Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. A insulina plasmática foi dosada na Universidade Estadual de Campinas, por radioimunoensaio (RIA), em gama coumera (Wizard2 Automatic Gamma Counter, TM-2470, PerkinElmer®, Shelton, CT, EUA), utilizado como padrão a insulina humana e o anticorpo utilizado foi o anticorpo anti insulina (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA). O limite de detecção é de 0,006 ng/ml. Os valores de glicose, colesterol e triglicerídeos são expressos em mg/dl e insulina em ng/ml.

5.5.1 FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α)

O plasma sanguíneo foi utilizado para a mensuração quantitativa de citocinas pró-inflamatórias, pelo fator de necrose tumoral α (TNF- α) nos animais, utilizamos o protocolo ELISA em formato ELISA sanduíche (número de catálogo 900-k73, PeproTech, Inc.) O procedimento seguiu as instruções do fabricante. Valores foram expressos em pg/ml.

4.6 ÍNDICE DE LEE

O Índice de Lee foi calculado a partir da divisão da raiz cúbica do peso do animal em gramas pelo comprimento nasoanal (CNA) em centímetros e multiplicado por 1000.

$$\frac{\sqrt[3]{PESO(g)}}{CNA(cm)} \times 1000$$

4.7 ÍNDICE DE HOMA (HOMA – IR)

Como indicador de sensibilidade a insulina, utilizamos o Índice de avaliação do modelo de homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR) (WANG et al., 2013), calculado pelo seguinte fórmula:

$$\frac{GLICOSE \left(\frac{mg}{dL} \right) \times INSULINA \left(\frac{IU}{L} \right)}{405}$$

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico GraphPad Prism versão 7.00 para Windows (Software Graph Pad, San Diego, CA, EUA). Os resultados foram apresentados como média \pm E.P.M com significância estatística de $p < 0,05$. Para determinar as diferenças entre os grupos utilizamos a análise de variância (Two-Way ANOVA) com pós teste de Tukey.

5 RESULTADOS

Pode-se observar na Tabela 2 que a dieta CAF levou ao aumento no peso corporal dos animais do grupo OBESO (15%), em relação ao grupo CON, o grupo OBESO LIRA similarmente aumentou o peso corporal (12%) comparado ao OBESO e 20% em relação ao seu grupo controle (CON LIRA), o grupo OBESO EXE também apresentou aumento em seu peso corporal, aproximadamente 10% comparado ao grupo CON EXE, já o grupo OBESO EXE LIRA apresentou aumento do peso de 13% comparado ao CON EXE LIRA, porém demonstrou que a associação dos dois tratamentos levou a redução de 19% em comparação a ação da liraglutida sozinha (OBESO LIRA).

Os dados de peso dos estoques de gordura também estão representados na Tabela 2, onde pode-se observar que a gordura mesentérica do grupo OBESO foi 58% superior ao CON, o grupo OBESO LIRA aumentou em 64% comparado ao CON LIRA, o OBESO EXE teve aumento de 60% em relação ao CON EXE, entretanto mostrou redução de 25% comparado ao OBESO LIRA, já o CON EXE LIRA demonstrou redução de 21% comparado ao CON e o OBESO EXE LIRA apresentou resultado 57% superior ao seu controle (CON EXE LIRA).

A gordura epididimal e retroperitoneal dos animais do grupo OBESO apresentaram aumento de 60% e 47% respectivamente, comparado ao grupo CON, também houve aumento de 70% na mesentérica e 27% na retroperitoneal no grupo OBESO LIRA em relação ao grupo CON LIRA, já o grupo OBESO EXE demonstrou reduzir a epididimal em 26% em relação ao OBESO e 32% em relação ao OBESO LIRA e aumentou 49% comparado ao CON EXE, na retroperitoneal o grupo OBESO EXE apresentou aumento de 52% em relação ao CON EXE, porém se comparado ao OBESO LIRA demonstrou redução de 34%. O grupo OBESO EXE LIRA mostrou aumento de 52% no peso de gordura epididimal e 60% na retroperitoneal, comparado ao CON EXE LIRA.

O peso de gordura interescapular dos animais do grupo OBESO similarmente, demonstrou aumento de 38% comparado ao CON e o grupo OBESO EXE apresentou aumento de 40% comparado ao CON EXE.

Ainda podemos observar na Tabela 2 os resultados de peso de órgãos, onde o peso de fígado dos animais do grupo OBESO apresentou média 27% superior

comparado ao CON, o grupo que recebeu a intervenção do exercício físico (OBESO EXE), reduziu 16% comparado ao OBESO, também pode-se observar que o grupo que recebeu a intervenção dos dois tratamentos em conjunto (OBESO EXE LIRA) reduziu 18% comparado também ao grupo OBESO, o qual não recebeu nenhuma intervenção.

O peso do pâncreas dos animais, diferiu significativamente somente entre os grupos CON EXE LIRA e CON EXE, onde este último demonstrou redução de 29% em relação ao primeiro. Os resultados do peso de músculo não apresentaram diferença estatística significativa. Para os resultados do peso da glândula adrenal, o grupo OBESO EXE mostrou diferença de 78% superior ao grupo OBESO e o grupo OBESO EXE LIRA mostrou aumento de 16% comparado ao CON EXE LIRA.

Tabela 2 – Peso dos órgãos, gorduras e peso corporal final dos animais.

	CON	OBESO	CON LIRA	OBESO LIRA	CON EXE	OBESO EXE	CON EXE LIRA	OBESO EXE LIRA
Peso corporal (g)	337±10,2	399±11,3 ^a	363±6,79	455±16,6 ^{abc}	341±7,69 ^{bd}	383±9,90 ^{ad}	326±6,32 ^{bdf}	378±9,51 ^{adg}
Gordura Mesentérica (g)	3,28±0,31	7,82±0,59 ^a	2,87±0,28 ^b	8,09±0,78 ^{ac}	2,38±0,17 ^{bd}	6,02±0,37 ^{ade}	2,56±0,14 ^{adf}	5,99±0,62 ^{ceg}
Gordura Epididimal (g)	4,76±0,32	12,0±0,82 ^a	3,84±0,32 ^b	13,0±0,69 ^{ac}	4,45±0,42 ^{bd}	8,80±0,62 ^{abde}	5,47±0,49 ^{bdf}	11,6±1,09 ^{aceg}
Gordura Retroperitoneal (g)	5,80±0,84	10,3±0,77 ^a	5,77±0,45 ^b	14,2±0,80 ^{abc}	4,42±0,29 ^{bd}	9,3±0,74 ^{ade}	4,64±0,56 ^{bdf}	11,7±0,80 ^{aceg}
Gordura Interescapular (g)	0,34±0,04	0,58±0,04 ^a	0,27±0,06 ^b	0,49±0,06	0,37±0,03 ^b	0,62±0,05 ^{ace}	0,35±0,03 ^{bf}	0,51±0,02 ^c
Fígado (g)	11,3±0,21	15,5±0,62 ^a	12,4±0,17 ^b	14,0±0,56 ^a	11,6±0,26 ^{bd}	13,0±0,46 ^b	12,2±0,21 ^b	12,6±0,66 ^b
Pâncreas (g)	0,94±0,04	0,72±0,07	0,80±0,04	0,75±0,03	1,08±0,12 ^b	0,97±0,12	0,76±0,06 ^e	0,69±0,04 ^e
Músculo Sóleo (g)	0,59±0,05	0,58±0,06	0,47±0,08	0,52±0,02	0,64±0,07	0,68±0,04	0,55±0,03	0,63±0,05
Glândula Adrenal (g)	0,03±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,06±0,01	0,14±0,04 ^h	0,06±0,02	0,05±0,01 ^f

Dados expressos como média±EPM, n=10-12 animais. As letras sobre os números representam diferenças estatísticas de p<0,05. (a) diferença estatística em relação ao grupo CON; (b) OBESO; (c) CON LIRA; (d) em relação ao OBESO LIRA; (e) CON EXE; (f) OBESO EXE LIRA e (g) CON EXE LIRA.

Conforme demonstram os dados da Figura 3, o grupo OBESO EXE reduziu 4% o índice de Lee comparado ao grupo OBESO e ainda houve redução de 4% do grupo OBESO EXE em relação ao OBESO EXE LIRA. Quanto aos grupos controle, o grupo CON EXE e CON EXE LIRA reduziram em 8% e 6% respectivamente, em comparação com o grupo CON.

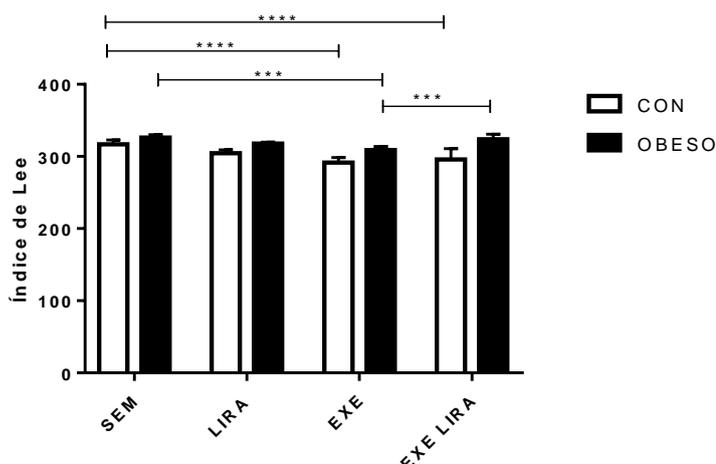


Figura 3 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, no Índice de Lee dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,001$ (***) e $p < 0,0001$ (****), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Os dados de colesterol total encontrados no grupo CON LIRA foram significativamente maiores que os grupos CON EXE (31%) e CON EXE LIRA (27%), dados representados na Figura 4. Na Figura 5, pode-se observar os resultados de triglicerídeos onde os animais do grupo OBESO, apresentaram valor superior (46%) comparado ao CON, porém os grupos OBESO LIRA, OBESO EXE e OBESO EXE LIRA reduziram em 37%, 45% e 97% respectivamente comparado ao grupo OBESO.

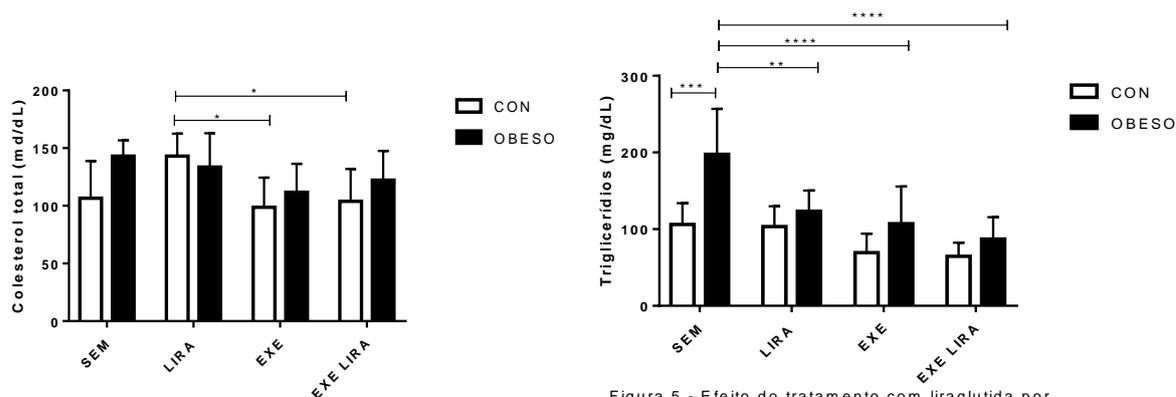


Figura 4 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, nas concentrações séricas de colesterol total dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos (*) sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,05$, pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Figura 5 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, nas concentrações séricas de Triglicerídeos dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***) e $p < 0,0001$ (****), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Para os dados de glicose (Figura 6) observa-se aumento no grupo OBESO de 19%, comparado ao CON, similarmente aos dados de triglicerídeos, a glicose também reduziu nos grupos OBESO LIRA (20%), OBESO EXE (36%) e OBESO EXE LIRA (21%) em comparação ao grupo OBESO.

Para o parâmetro insulina representado na Figura 7, observa-se que os animais do grupo OBESO aumentaram expressivamente (73%) em relação ao grupo CON, podemos observar também que os grupos obesos que receberam as intervenções reduziram os níveis séricos de insulina, quando comparado ao grupo sem nenhuma intervenção, o grupo OBESO LIRA reduziu 77%, OBESO EXE 93% e o OBESO EXE LIRA reduziu 96% comparados ao grupo OBESO.

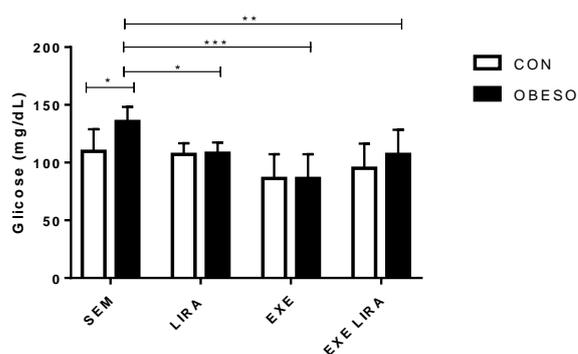


Figura 6 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, nas concentrações séricas de Glicose dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); e $p < 0,001$ (***), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

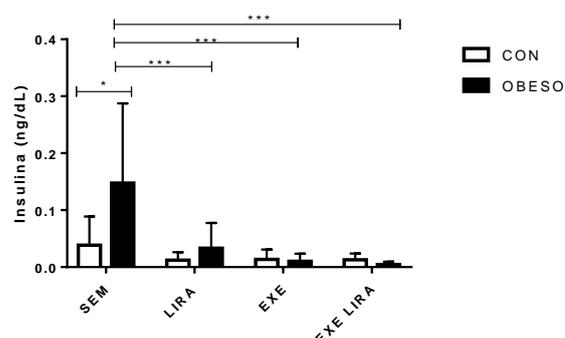


Figura 7 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, nas concentrações séricas de Insulina dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,05$ (*); e $p < 0,001$ (***), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Na Figura 8 está representado os resultados de HOMA-IR, pode-se observar que os animais do grupo OBESO mostraram aumento de 71% no índice HOMA-IR que o seu grupo controle (CON), os grupos obesos que receberam as intervenções diferiram do grupo sem nenhuma intervenção, onde os animais do grupo OBESO LIRA reduziram 78% comparado ao OBESO, a intervenção do exercício físico (OBESO EXE), demonstrou redução de 90% e a intervenção do exercício físico em associação com a liraglutida (OBESO EXE LIRA) mostrou redução de 96%, comparado ao OBESO.

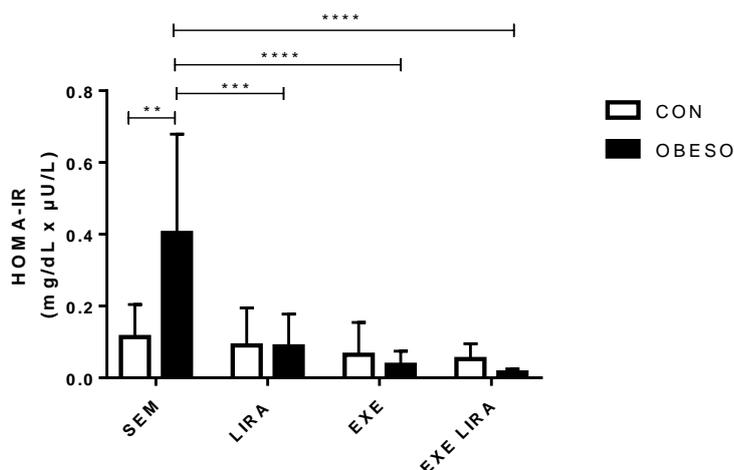


Figura 8 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias no HOMA-IR (Homeostasis model assessment), dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***) e $p < 0,0001$ (****), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Conforme os dados da Figura 9 o grupo CON EXE LIRA demonstrou redução no TNF- α 57% comparado ao OBESO EXE LIRA, este último ainda demonstrou resultado 88% superior ao grupo OBESO, o grupo CON EXE também apresentou valores menores (76%) comparado ao grupo OBESO EXE, quanto a este último ainda pode-se observar aumento de 89% comparado ao OBESO. O grupo CON LIRA aumentou 77% o TNF- α em relação ao CON, enquanto o CON EXE LIRA aumentou em 92% também comparado ao CON.

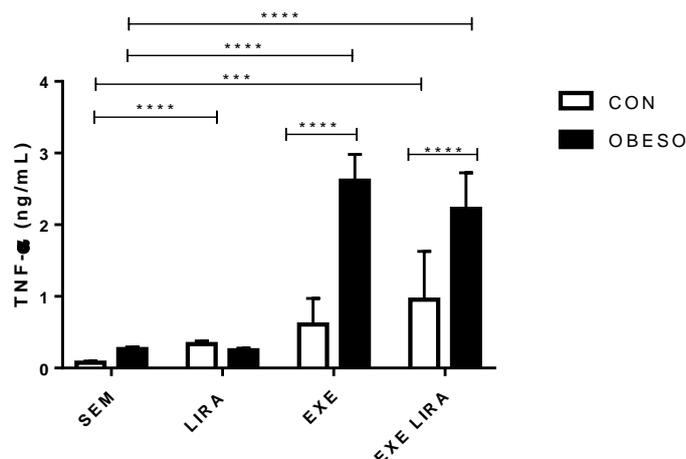


Figura 9 - Efeito do tratamento com liraglutida por 10 dias, nas concentrações séricas de TNF- α dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico. Dados apresentados como média \pm EPM, n = 10 -12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,001$ (***) e $p < 0,0001$ (****), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

Em relação ao consumo alimentar dos animais durante o experimento, podemos observar na Figura 10, o gráfico de linhas que para melhor visualização foi dividido em grupos: sem intervenção (10A); com intervenção da liraglutida (10B); intervenção do exercício físico (10C) e por último a associação das duas intervenções (10D). Observa-se que a partir da 3 semana os grupos que receberam a dieta CAF demonstraram aumento no consumo alimentar comparado ao grupo controle, o grupo OBESO aumentou 45% e o OBESO LIRA 58%.

Na quarta semana o grupo OBESO apresentou diferença de 66 % superior ao CON, e o grupo CON EXE aumentou o consumo 29% comparado ao CON, ainda o grupo OBESO EXE aumentou 29% seu consumo alimentar, comparado ao CON EXE. Na quinta semana pode-se observar que o grupo OBESO EXE aumentou 22% o consumo comparado ao grupo OBESO. Na semana nove, última semana de experimento, onde os grupos LIRA receberam a intervenção com a Liraglutida, o grupo OBESO aumentou o consumo e mostrou diferir 25% ao CON, a intervenção da liraglutida demonstrou redução do consumo em 22% no grupo OBESO LIRA em comparação com o grupo OBESO EXE LIRA.

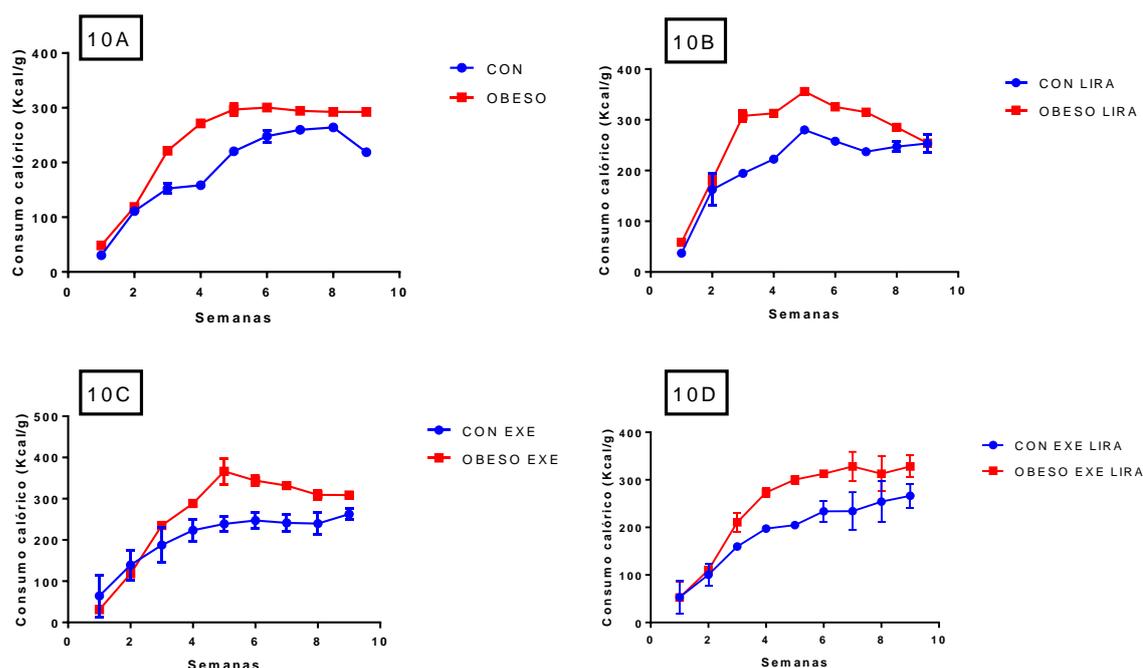


Figura 10 - Consumo alimentar durante todo o experimento, dos animais controle (CON); Obesos, obtidos por dieta de cafeteria (OBESO); Com intervenção do exercício físico (CON EXE e OBESO EXE); Com intervenção da liraglutida (CON LIRA e OBESO LIRA) e com intervenção do exercício físico em associação com a liraglutida (CON EXE LIRA e OBESO EXE LIRA). Dados apresentados como média \pm EPM, n = 10 -12.

O total de consumo alimentar dos animais dos 80 aos 90 dias de vida, período onde foi administrado a intervenção com a liraglutida, está expresso em gráfico de barras (Figura 11). Os grupos obesos aumentaram o consumo alimentar: OBESO (57%); OBESO LIRA (74%) e OBESO EXE (61%) em relação ao CON, CON LIRA e CON EXE, respectivamente. O grupo OBESO EXE LIRA teve menor consumo alimentar que os outros grupos obesos, com redução de 51% em relação ao OBESO; 60% comparado ao OBESO LIRA e 58% comparado ao OBESO EXE.

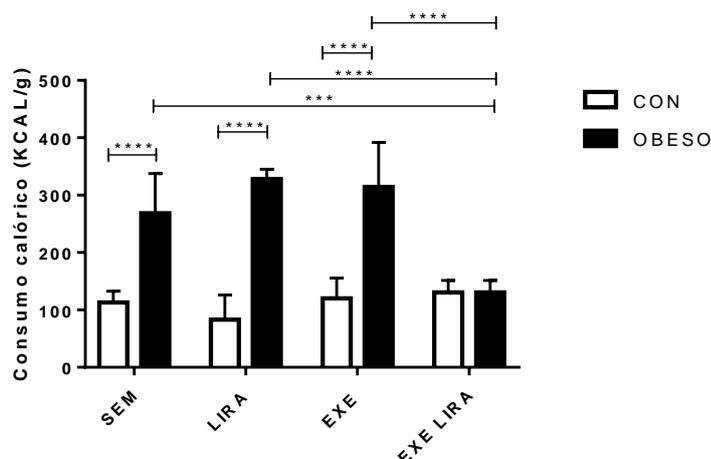


Figura 11 - Consumo alimentar dos 80-90 dias de vida dos animais normais e obesos, obtidos por dieta de cafeteria, submetidos ou não ao exercício físico e a intervenção com liraglutida. Dados apresentados como média±EPM, n = 10-12. Os símbolos sobre as barras representam diferença estatística de $p < 0,001$ (***) e $p < 0,0001$ (****), pela análise de variância (Two-way ANOVA) com pós-teste de Tukey.

O ganho de peso dos animais durante o decorrer do experimento, está representado na Tabela 3, evidencia-se que a partir dos 61 dias de vida, os animais do grupo OBESO aumentaram o peso 39% e o grupo OBESO EXE aumentou 43% comparado ao CON. Na última coluna pode-se observar a intervenção com a liraglutida onde os animais OBESO mantiveram com o ganho de peso superior, aproximadamente 37% comparado ao CON, o grupo OBESO EXE reduziu seu peso 40% e o OBESO EXE LIRA 31%, comparado ao grupo OBESO.

Tabela 3 – Ganho de peso em gramas (g) dos 21 aos 90 dias de vida dos animais

DIAS DE VIDA	CON	OBESO	CON LIRA	OBESO LIRA	CON EXE	OBESO EXE	CON EXE LIRA	OBESO EXE LIRA
21-40	106,7±4,8	98,9±4,5	117,3±4,8	120,4±7,2	98,6±6,8	102,5±5,0	110,3±5,0	95,1±4,6 ^d
41-60	115,8±4,2	124,6±6,4	105,6±4,5	134,7±6,2 ^c	105,1±4,2 ^d	115,1±3,8	110,7±6,2 ^d	128,9±3,0 ^c
61-80	43,8±4,0	72,3±2,5 ^a	63,8±2,9 ^a	93,0±4,5 ^{ac}	67,6±5,5 ^{ad}	77,6±4,7 ^a	61,7±5,2 ^{ad}	72,1±3,4 ^{ad}
80-90	22,2±2,6	35,4±3,6 ^a	18,8±2,3 ^b	31,6±2,1	17,3±1,9 ^{bd}	21,1±2,0 ^b	17,9±1,9 ^{bd}	24,3±1,7 ^b

Dados expressos como média±EPM, n=10-12 animais. As letras sobre os números representam diferenças estatísticas de $p < 0,05$. (a) diferença estatística em relação ao grupo CON; (b) OBESO; (c) CON LIRA; (d) em relação ao OBESO LIRA; (e) CON EXE; (f) OBESO EXE LIRA e (g) CON EXE LIRA.

6 DISCUSSÃO

Para a indução da obesidade em animais, a utilização da dieta CAF é de grande valia por levar o animal ao mais próximo da obesidade humana, sendo uma dieta altamente palatável e que utiliza alimentos com alto teor de gordura e carboidratos, semelhante a condição da dieta humana, encontrada em várias partes do mundo. A dieta de cafeteria induz a patologias irreversíveis que não são evidenciados em outros meios de indução a obesidade animal (ROTHWELL; STOCK, 1997).

Adicionalmente animais que recebem dieta com alto teor de gordura tem demonstrado aumento do peso corporal e maior adiposidade, principalmente aumento no peso da gordura mesentérica em relação ao seu controle, que recebeu a dieta padrão (GIL-CARDOSO et al., 2017). Podemos observar em nossos resultados que os animais que receberam a dieta CAF apresentaram aumento do peso corporal final e dos estoques de tecido adiposo mesentérico, epididimal, retroperitoneal. Similar aos nossos resultados, um estudo desenvolvido em fêmeas alimentadas pela dieta CAF, mostrou aumentar o peso corporal e os depósitos de gordura epididimal e retroperitoneal, comparado aos animais controles (SAGAE et al., 2013).

Doze semanas de alimentação com dieta de cafeteria tem demonstrado levar ao maior desenvolvimento de peso corporal e dos estoques de tecido adiposo, nos animais exercitado e sedentário em comparação ao controle, embora o grupo sedentário apresente valores maiores que o grupo CAF exercitado (BRANDT et al., 2010). Observamos em nosso estudo, que a intervenção da liraglutida em associação ao exercício físico demonstrou melhores resultados na redução do peso corporal dos animais obesos, comparada a intervenção do exercício físico ou da liraglutida separados.

A intervenção do exercício físico demonstrou melhores resultados na redução da gordura epididimal e retroperitoneal comparada ao grupo que recebeu a intervenção da liraglutida. Quanto a gordura mesentérica a liraglutida demonstrou reduzir o peso de da gordura somente nos animais controles, já o exercício físico demonstrou melhores resultados para os animais obesos, comparado a intervenção da liraglutida. Contrariamente aos nossos resultados, análogos não peptídicos do GLP-1 mostraram

reduzir o peso da gordura mesentérica em animais obesos que receberam dieta com alto teor de gordura (HE et al., 2010).

A gordura interescapular é conhecida como gordura marrom e está envolvida com o gasto de energia para a termogênese e desempenha papel de regulação energética, conhecida também como tecido produtor de calor (YOSHIOKA; YOSHIDA; KONDO, 1991) Encontramos aumento nos estoques de gordura interescapular em nossos animais OBESO e OBESO EXE, o que também já foi descrito na literatura, onde evidenciou que a gordura interescapular do grupo CAF chegou a pesar 3 vezes mais que a do grupo controle, porém quando submetidos a uma dose de liraglutida (30nmol kg/dia) os animais tiveram perdas significativas de peso corporal e peso de tecido adiposo interescapular, todavia o teor de gotículas lipídicas no tecido ainda estava elevado, pois a gordura se apresenta menos metabolicamente ativa do que o grupo controle (BIDAR et al., 2012). Deste modo a termogênese da gordura marrom é diminuída em animais alimentados por dieta rica em gordura (HEPPNER et al., 2015).

Em nossos resultados não houve redução no peso da gordura interescapular dos animais que receberam as intervenções comparado aos grupos OBESO ou CON, todavia os grupos que receberam a intervenção da liraglutida não diferiram estatisticamente dos seus controles.

O peso de fígado do grupo OBESO foi significativamente maior que dos animais controle, o aumento no peso do fígado pela dieta de cafeteria, sugere a hepatomegalia que pode ser confirmada com o peso corporal elevado dos animais, a hepatomegalia ocorre por meio da desregulação de lipídios hepáticos, citocinas pró inflamatórias e estresse oxidativo que interagem entre si e promovem o acúmulo de gordura hepática (BHARATHA et al., 2017). Podemos sugerir também que o exercício físico reduz a hepatomegalia, pois em nossos resultados demonstrou reduzir o peso do fígado dos animais obesos e quando associado a intervenção com a liraglutida demonstra ainda melhores resultados.

A utilização de agonistas do GLP-1 tem demonstrado relatos clínicos de pancreatites, levando ao aumento do peso do pâncreas e algumas alterações histológicas (KOEHLER et al., 2009). A única alteração observada em nosso estudo foi menor peso de pâncreas nos animais controle exercitados, comparado aos CON EXE LIRA, não observamos quaisquer outras alteração no peso de pâncreas em nos

grupos tratados com liraglutida. Similarmente aos nossos resultados, um estudo com ratos machos zucker diabéticos tratados com liraglutida, relataram que o tratamento com análogo do GLP-1 não afetou o peso do pâncreas dos animais (VRANG et al., 2012).

Assim como o pâncreas, o músculo sóleo não apresentou diferença estatística significativa em nenhum dos grupos, achados na literatura apontam que o exercício físico precoce em animais expostos a dieta padrão aumenta a massa muscular, porém a exposição a dieta rica em gordura reduz a massa muscular aumentada pelo exercício (TÓFOLO et al., 2015). Resultados que não foram observados através da pesagem do musculo sóleo nos animais do nosso estudo.

A glândula adrenal está relacionado com o desenvolvimento da obesidade e diabetes em ratos, o aumento do seu peso foi verificado em animais submetidos a dietas hipercalóricas, anormalidades na glândula adrenal foram precedidas pelo desenvolvimento da obesidade, hiperglicemia e hiperinsulinemia (APPEL et al., 1979). Porém, só observamos aumento no peso da glândula adrenal nos animais do grupo OBESO EXE LIRA em relação ao seu controle. Adicionalmente, alterações no microambiente da glândula adrenal são conhecidas por influenciar a progressão de condições patológicas como obesidade, ocorrendo alteração na função e estrutura da glândula (KANCZKOWSKI; SUE; BORNSTEIN, 2017; SWIERCZYNSKA et al., 2015). Observamos ainda, aumento no peso da glândula adrenal do grupo OBESO EXE comparado ao grupo OBESO, fato que também já foi relatado na literatura pois o exercício físico leva a hipertrofia da glândula adrenal e ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal gerando adaptações metabólicas ao exercício físico (LANA; PAULINO; GONÇALVES, 2006).

O índice de Lee foi relatado por vários autores como um marcador de obesidade e grau de obesidade (BERNARDIS E PATTERSON, 1968; SOUZA, 1999). Os nossos dados de índice de Lee dos animais obesos com intervenção do exercício físico, reduziu em relação ao OBESO e ao OBESO EXE LIRA, assim com os controles exercitados reduziram em relação aos que receberam a intervenção do exercício físico em associação da liraglutida, sugerindo assim que o exercício físico apresenta melhores resultados na redução deste parâmetro, que a sua associação com a liraglutida. O índice de Lee pode ser utilizado como um método de mensuração da obesidade em animais pois apresenta correlação com a massa gorda (MALAFAIA et

al., 2013). Não encontramos dados semelhantes na literatura, com a intervenção do exercício físico como redutor do índice de Lee.

Nosso estudo também acompanhou os dados bioquímicos desses animais, onde verificamos alterações interessantes, o colesterol total do grupo obeso não diferiu do grupo controle, porém o grupo CON LIRA demonstrou menor valor que os grupos CON EXE e CON EXE LIRA. Os animais obesos aumentaram os triglicerídeos, glicose e insulina. Semelhante aos nossos resultados um estudo com fêmeas observou que a dieta da cafeteria promoveu aumento no triglicerídeos, porém não houve efeito sobre o colesterol total em comparação com os animais alimentados com dieta padrão (SAGAE et al., 2013). Também observado em filhotes de mães obesas submetidos a dieta de cafeteria, relatado o aumentando dos triglicerídeos, sem alteração significativas nas concentrações plasmáticas de colesterol total (JACOBS et al., 2014).

Nossos resultados de insulina corroboram com estudos em camundongos, onde a ingestão de dieta hipercalórica levou a indução da hiperinsulinemia grave, com aumento da insulina mais de 7 vezes em relação ao controle (HE et al., 2010).

A intervenção com a liraglutida ou com o exercício físico e a associação dos dois tratamentos demonstrou reduzir os parâmetros bioquímicos, sendo que a glicose mostrou melhor redução com a intervenção do exercício físico. Em modelos de dietas com alto teor gordurosa a liraglutida já mostrou reduzir a glicose (LI et al., 2011). A administração de liraglutida em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 reduziu significativamente o triglicerídeos e glicose, sendo que o triglicerídeos reduziram em 50% comparado ao grupo que recebeu placebo (HERMANSEN et al., 2013).

Na literatura há registros que animais expostos a dieta de cafeteria apresentam maiores quantidades de triglicerídeos séricos do que animais alimentados com dieta padrão e estes níveis caem com o exercício físico até que voltem a sua normalidade (SUÁREZ-GARCÍA et al., 2017). Nos resultados de triglicerídeos e insulina observamos melhores resultados com a associação do exercício físico e a liraglutida, porém em segundo lugar para redução de triglicerídeos e insulina mostrou-se a intervenção com o exercício físico.

A sensibilidade à insulina pode-se ainda ser estimada utilizando o índice HOMA-IR (RONG et al., 2010). O índice HOMA-IR enquanto instrumento de diagnóstico de resistência à insulina é utilizado por muitos autores, principalmente na

epidemiologia e tem sido validado diante do padrão ouro (OLIVEIRA; SOUZA; LIMA, 2005). Nossos animais do grupo OBESO apresentaram índice HOMA-IR elevado em comparação aos animais CON, sugerindo assim a resistência à insulina nos animais obesos. Similarmente, animais que foram alimentados por dieta com alto teor de gordura apresentaram valores superiores no índice HOMA-IR (NEUSCHWANDER-TETRI, 2010). Todas as intervenções demonstraram redução no índice HOMA, todavia a associação do exercício físico e da liraglutida mostrou melhores resultados, seguida da intervenção do exercício físico.

O TNF- α é considerado um mediador importante da inflamação (NAVARRO et al., 2016). Em Modelos animais de indução a obesidade o aumento da expressão de TNF- α é uma característica comum, e sua superexpressão também está presente na obesidade humana, a neutralização do TNF- α interfere na ação da insulina sugerindo ainda a redução na resistência à insulina (JUNG; CHOI, 2014).

Nossos resultados de TNF- α mostram que a intervenção com liraglutida, exercício físico ou sua associação em animais obesos ou normais, aumentou os níveis de TNF- α , Contrariamente aos achados da literatura onde relatou-se que a utilização da liraglutida em animais obesos reduziu a inflamação no cérebro, por meio da diminuição da transcrição do TNF- α , sugerindo a ligação do desempenho periférico da liraglutida com sua ação direta no sistema nervoso central. (BARRETO-VIANNA; AGUILA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2017).

Alguns estudos mostram ainda que a infusão do TNF- α pode causar redução nas concentrações de GLP-1 e os autores sugerem que o efeito benéfico do GLP-1 e seus análogos pode ser reduzido em condições pró inflamatórias (LEHRSKOV-SCHMIDT et al., 2015). Podemos sugerir ainda que um efeito atenuador ou mesmo diminuidor do processo inflamatório pela intervenção da liraglutida seria verificado em um período maior de tempo.

A dieta de cafeteria promoveu aumento no consumo alimentar dos nossos animais dos grupos obesos durante todo o experimento, mesmo nos grupos exercitados. Similar aos nossos achados, há relatos na literatura de que animais alimentados com dieta de cafeteria mostram aumentam na ingestão de alimentos a partir dos 56 dias de ingestão da dieta, em comparação aos animais que recebem dieta padrão, persistindo até o final do experimento. A ingestão calórica dos animais dieta de cafeteria resulta no acúmulo de gordura desses animais (SAGAE et al., 2013).

O uso da liraglutida demonstra reduzir o peso corporal e a ingestão alimentar tanto em animais normais quanto em animais obesos, através da sua ação no trato gastrointestinal e no cérebro, inibindo o apetite e alterando o aporte energético, além de promover retardo no esvaziamento gástrico (FARIA et al., 2010). Quando observamos a intervenção da liraglutida que ocorreu dos 80 aos 90 dias de vida dos animais, não houve alteração no consumo alimentar, porém o grupo OBESO LIRA reduziu o consumo alimentar em relação ao OBESO EXE LIRA.

Há relatos que a ativação do sistema receptor do GLP-1 pela administração de liraglutida, induz a redução da ingestão calórica e do peso corporal durante o tratamento, porém os autores apontam que a liraglutida no contexto da obesidade seria mais efetiva quando usada junto com uma dieta de redução calórica diária (HYDE et al., 2017). Similarmente, pacientes obesos que utilizaram o tratamento com liraglutida relataram redução do apetite e subsequente redução na ingestão de calorias levando a perda de peso (VAN CAN et al., 2014). Pode-se sugerir a necessidade de uma intervenção em um período mais longo para que haja efeito notório no consumo alimentar dos animais obesos. Adicionalmente foi observado que a associação do exercício físico diferiu dos outros tratamentos, mostrando ter maior eficácia na redução do consumo alimentar que as intervenções usadas separadamente.

Animais alimentados por dieta de cafeteria apresentam um padrão de aumento do peso drástico ocasionado pela hiperfagia voluntária observada neste animais, além da triplicação dos valores de massa adiposa branca (SAMPEY et al., 2011). Nota-se que os animais obesos apresentaram maior aumento do peso a partir do 61º dia de vida, mesmo nos animais que foram exercitados durante todo o experimento.

Animais que receberam uma dieta com alto teor de gorduras e carboidratos, alteram o consumo alimentar após a intervenção do exercício, reduzindo o ganho de peso corporal e revertendo o aumento de gordura abdominal nos grupos exercitados (CAMERON et al., 2012). Também há relatos que a intervenção com a liraglutida em animais mostra reduzir do ganho de peso (ZHENG et al., 2015). Pode-se observar em nossos dados que o exercício físico demonstrou alteração no peso corporal dos animais durante o período de intervenção com a liraglutida e em seguida está o grupo OBESO EXE LIRA, ambos reduziram o peso comparados ao grupo OBESO.

Em humanos a administração da liraglutida levou a redução no ganho de peso corporal de pacientes com Diabetes mellitus tipo 2 (WIT et al., 2014). O tempo de administração da liraglutida em outros estudos foi maior que do nosso trabalho, o que pode explicar o fato da liraglutida não reduzir o ganho de peso de nossos animais. Todavia o uso da liraglutida por um longo período de tempo pode causar efeitos colaterais como náusea e vômitos, relatados em pacientes obesos não diabéticos, sugerindo que pelo menos parte do mecanismo de ação da perda de peso induzida pela liraglutida está associada a estes eventos colaterais (LEAN et al., 2014).

7 CONCLUSÃO

Os animais que receberam a dieta de cafeteria chegaram ao perfil metabólico da obesidade, a administração da liraglutida por 10 dias apresentou redução do consumo alimentar dos animais obesos no final do experimento. A intervenção do exercício físico foi eficaz na redução dos estoques de gordura mesentérica, epididimal e retroperitoneal, também reduziu parâmetros bioquímicos como glicose, o índice de Lee, ganho de peso e aumentou o peso da glândula adrenal em animais obesos. Nos animais do grupo controle reduziu o peso do pâncreas, índice de Lee e colesterol total. A associação do exercício físico com a liraglutida apresentou melhores resultados na redução do peso corporal no final do experimento, redução do consumo dos 80-90 dias de vida, peso do fígado, níveis circulantes de triglicérides e insulina, índice HOMA-IR, nos animais obesos, porém aumentou o TNF- α em ambos os grupos, obeso e controle. A intervenção do exercício físico é eficaz na redução de alguns parâmetros relacionados ao desenvolvimento da obesidade, porém a sua associação com a liraglutida por 10 dias apresentou melhores resultados na redução do peso corporal, consumo alimentar e parâmetros bioquímicos, de animais obesos obtidos por dieta de cafeteria.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, M. F. et al. Effects of physical training and statins therapy in the lipidic profile of. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 24, n. 1, p. 108–117, 2016.
- AHMED, R. H. et al. Altered circulating concentrations of active glucagon-like peptide (GLP-1) and dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in obese subjects and their association with insulin resistance. **Clinical Biochemistry**, v. 50, n. 13–14, p. 746–749, 2017.
- ALMEIDA, M. E. F. DE; SANTOS, V. S. Cafeteria diet with chocolate, peanut and cookie: effectiveness in induction of overweight and dyslipidemia in rats. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 3, p. 15–24, 2015.
- APPEL, M. C. et al. Adrenal Gland Involvement in Mice with Hereditary Obesity and Diabetes Mellitus. **Diabetologia**, v. 16, p. 391–398, 1979.
- BAGGIO, L. L.; DRUCKER, D. J. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology**, v. 132, n. 6, p. 2131–2157, 2007.
- BALDWIN, K. M. Skeletal Muscle Plasticity: Cellular and molecular responses to altered physical activity paradigms. **American journal of Physical Medicine & Rehabilitation**. v. 81, n. 11, p. 40-51, 2002.
- BARRETO-VIANNA, A. R. C.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Beneficial effects of liraglutide (GLP1 analog) in the hippocampal inflammation. **Metabolic Brain Disease**, p. 1–11, 2017.
- BAYS, H. E. Current and investigational antiobesity agents and obesity therapeutic treatment targets. **Obesity Research**, v. 12, n. 8, p. 1197–1211, 2004.
- BERNARDIS, L.L, PATTERSON, B.D. Correlation between “Lee Index” and Carcass Fat Content in Weanling and Adult Female Rats with Hypothalamic Lesions. **Journal of Endocrinology**, v.40, p. 527-528, 1968.
- BHARATHA, A. et al. Pathophysiological changes in liver tissues of hypercalorie diet-induced obese rats. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 1, p. 338–340, 2017.
- BIDAR, A. W. et al. In vivo imaging of lipid storage and regression in diet-induced obesity during nutrition manipulation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 303, n. 11, p. E1287–E1295, 2012.
- BRAGA, L. et al. Continuous and intermittent exercise: effects of training and detraining on body fat in obese rats. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 6, n. 2, p. 160–9, 2006.
- BRANDT, N. et al. Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. **American Journal of Physiology - Endocrinology and metabolism**, v. 299, n. 2, p. E215-24, 2010.
- BUYSSCHAERT, M.; D’HOOGHE, D.; PREUMONT, V. ROOTS: A multicenter study in Belgium to evaluate the effectiveness and safety of liraglutide (Victoza®) in type 2 diabetic patients. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 9, n. 3, p. 139–142, 2015.

CALEGARI, V. et al. Endurance Training Activates Pancreatic Islets Amp-Activated Kinase-Uncoupling Protein 2 Pathway and Reduces Insulin Secretion. **Journal of Endocrinology**, v.6, n.35, p 242-253, 2011.

CAMERON, I. et al. Endurance exercise in a rat model of metabolic syndrome. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 90, n. 11, p. 1490–1497, 2012.

CANI, P. D. et al. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 1, p. 32–37, 2007.

CARILLON, J. et al. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: Improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, p. 254–261, 2013.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 419–425, 2002.

CASTOLDI, R. C. et al. Effects of 14 Weeks Resistance Training on Muscle Tissue in Wistar Rats. **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 2, p. 446–451, 2015.

CASTRO, G. et al. Diet-induced obesity induces endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the amygdala of rats. **FEBS Open Bio**, v. 3, p. 443–449, 2013.

CEFALU, W. T. et al. Advances in the science, treatment, and prevention of the disease of obesity: Ref lections from a diabetes care editors' expert forum. **Diabetes Care**, v. 38, n. 8, p. 1567–1582, 2015.

CHACRA, A. R. Efeito fisiológico das incretinas —. **Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine**, v. 6, n. 7B, p. S613–S617, 2006.

CHEIK, N. C. et al. Efeito de diferentes frequências de exercício físico na prevenção da dislipidemia e da obesidade em ratos normo e hipercolesterolêmicos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 20, n. 2, p. 121–129, 2006.

CHEN, H. et al. Long-term high animal protein diet reduces body weight gain and insulin secretion in diet-induced obese rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 13, p. 2638–2643, 2012.

CIGARROA, I. et al. Treadmill intervention attenuates the cafeteria diet-induced impairment of stress-coping strategies in young adult female rats. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. 1–17, 2016.

CONTE, S. C.; CAMPOS, S. B. DE. Perspectives of Weight Loss with the Use of Liraglutide: Literature review. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 9, n. 1, p. 84–90, 2015.

DA SILVA, A. S. R. et al. Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 12, p. 2180–2188, 2010.

DRUCKER, D. J.; NAUCK, M. A. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. **Lancet**, v. 368, n.

9548, p. 1696–1705, 2006.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**, v. 365, n. 9468, p. 1415–1428, 2005.

ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218–224, 2004.

FARIA, A. M. et al. Progressos recentes e novas perspectivas em farmacoterapia da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 54, n. 6, p. 516–529, 2010.

FARIAS, J. M. DE. Effects of physical exercise in molecular parameters of the route of obesity and insulin signaling. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**. v 16, n. 5, p. 588–596, March. 2014.

FONSECA-ALANIZ, M. H. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 216–229, 2006.

FREITAS, M. C.; CESCHINI, F. L.; RAMALLO, B. T. Resistência à insulina associada à obesidade: Efeitos anti-inflamatórios do exercício físico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 22, n. 3, p. 139–147, 2014.

FUJII, N. et al. Ablation of AMP-Activated Protein Kinase 2 Activity Feeding of Mice. **Diabetes**, v. 57, p. 2958–66, 2008.

GIL-CARDOSO, K. et al. A cafeteria diet triggers intestinal inflammation and oxidative stress in obese rats. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 2, p. 218–229, 2017.

GOMES, R. M. et al. Efeito de um programa de exercício físico moderado em ratos de diferentes modelos de obesidade. **Revista da Educação Física**, v. 23, n. 2, p. 285–294, 2012.

HABER, E. P. et al. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 219–227, 2001.

HE, M. et al. Reversal of obesity and insulin resistance by a non-peptidic glucagon-like peptide-1 receptor agonist in diet-induced obese mice. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, 2010.

HEPPNER, K. M. et al. Contribution of brown adipose tissue activity to the control of energy balance by GLP-1 receptor signalling in mice. **Diabetologia**, v. 58, n. 9, p. 2124–2132, 2015.

HERMANSEN, K. et al. Liraglutide suppresses postprandial triglyceride and apolipoprotein B48 elevations after a fat-rich meal in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 15, n. 11, p. 1040–1048, 2013.

HYDE, K. M. et al. Liraglutide suppression of caloric intake competes with the intake-promoting effects of a palatable cafeteria diet, but does not impact food or macronutrient selection. **Physiology and Behavior**, v. 177, n. March, p. 4–12, 2017.

JACOBS, S. et al. The impact of maternal consumption of cafeteria diet on reproductive

function in the offspring. **Physiology and Behavior**, v. 129, p. 280–286, 2014.

JUNG, U.; CHOI, M.-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 4, p. 6184–6223, 2014.

KAMALAKKANNAN, S. et al. Emu oil decreases atherogenic plaque formation in cafeteria diet-induced obese rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 3063–3068, 2016.

KANCZKOWSKI, W.; SUE, M.; BORNSTEIN, S. R. The adrenal gland microenvironment in health, disease and during regeneration. **Hormones**, v. 16, n. 3, p. 251–265, 2017.

KAUR, J. A comprehensive review on metabolic syndrome. **Cardiology Research and Practice**, v. 2014, p.1-21, March. 2014.

KOEHLER, J. A. et al. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Activation Modulates Pancreatitis-Associated Gene Expression But Does Not Modify the Susceptibility to Experimental Pancreatitis in Mice. **DIABETES**, v. 58, p. 2148–2161, September. 2009.

LANA, A. D. C.; PAULINO, C. A.; GONÇALVES, I. D. Influência dos exercícios físicos de baixa e alta intensidade sobre o limiar de hipernocicepção e outros parâmetros em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 5, p. 248-254, 2006.

LEAN, M. E. J. et al. Tolerability of nausea and vomiting and associations with weight loss in a randomized trial of liraglutide in obese, non-diabetic adults. **International Journal of Obesity**, v. 38, n. 5, p. 689–697, 2014.

LEHRSKOV-SCHMIDT, L. et al. The effects of TNF- α on GLP-1-stimulated plasma glucose kinetics. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 100, n. 4, p. E616–E622, 2015.

LI, L. et al. Liraglutide Prevents Hypoadiponectinemia-Induced Insulin Resistance and Alterations of Gene Expression Involved in Glucose and Lipid Metabolism. **Molecular Medicine**, v. 17, n. 11–12, p. 1, 2011.

LOTFY, M. et al. The effect of glucagon-like peptide-1 in the management of diabetes mellitus: cellular and molecular mechanisms. **Cell and Tissue Research**, v. 358, n. 2, p. 343–358, 2014.

LOUZADA, S. M. et al. Efeito Da Obesidade Induzida Pela Dieta Da Cafeteria. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 2, n. 2, p. 92-102, 2013.

MACEDO, I. C. et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v. 38, n. 1, p. 189–196, 2012.

MALAFAIA, A. B. et al. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, n. Suplemento 1, p. 17–21, 2013.

MANSOUR, A. et al. Nutrients related to GLP1 secretory responses. **Nutrition**, v. 29, n. 6, p. 813–820, 2013.

MARINHO, R. et al. Effects of different intensities of physical exercise on insulin sensitivity and protein kinase B/Akt activity in skeletal muscle of obese mice. **Einstein (São Paulo)**, v. 12, n. 1, p. 82–89, 2014.

MARTIRE, S. I. et al. Altered Feeding Patterns in Rats Exposed to a Palatable Cafeteria Diet: Increased Snacking and Its Implications for Development of Obesity. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

MONSEY, M. S.; GERHARD, D. M. Obesity. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 87, p. 97–98, 2014.

NAVARRO, MARIA EUGENIA LOPES et al. Renal inflammatory and oxidative and metabolic changes after 6 weeks of cafeteria diet in rats. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 38, n. 1, p. 9–14, 2016.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: The central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. **Hepatology**, v. 52, n. 2, p. 774–788, 2010.

NG, M. et al. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. **Lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766–781, 2014.

OLIVEIRA, D. R. et al. Efeito da natação associada a diferentes tratamentos sobre o músculo sóleo de ratos: Estudo histológico e morfométrico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 20, n. 1, p. 74–77, 2014.

OLIVEIRA, P. O.; SOUZA, M. L. A.; LIMA, M. D. A. Índice HOMA(homeostasis modela assessment) na pratica clínica: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 4, p. 237–243, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Obesidade e excesso de peso**. Assembléia Mundial da Saúde, 2016. Atualizado em outubro de 2017. Disponível em:<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 31 Jan. 2018.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P. DE; LANCHETA JR., A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 2, p. 111–127, 2003.

PERUZZO, G. M. **Análise Dos Níveis de Glp-1 nos Estados de Jejum e Pós-prandial durante a Gestação em Mulheres não Diabéticas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande , 2010.

PI-SUNYER, X. et al. A Randomized, Controlled Trial of 3.0 mg of Liraglutide in Weight Management. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 1, p. 11–22, 2015.

PINTO JÚNIOR, D. A. C.; SERAPHIM, P. M. Cafeteria diet intake for fourteen weeks can cause obesity and insulin resistance in wistar rats. **Revista de Nutricao**, v. 25, n. 3, p. 313–319, 2012.

PORTHA, B.; TOURREL-CUZIN, C.; MOVASSAT, J. Activation of the glp-1 receptor signalling pathway: A relevant strategy to repair a deficient beta-cell mass. **Experimental Diabetes Research**, v. 2011, n. 2, 2011.

PRADA, P. O. et al. Western diet modulates insulin signaling, c-jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. **Endocrinology**, v. 146, n. 3, p. 1576–1587, 2005.

PRATLEY, R. E. et al. Liraglutide versus sitagliptin for patients with type 2 diabetes who did not have adequate glycaemic control with metformin: A 26-week, randomised, parallel-group, open-label trial. **Lancet**, v. 375, n. 9724, p. 1447–1456, 2010.

RAUN, K. et al. Liraglutide, a long-acting glucagon-like peptide-1 analog, reduces body weight and food intake in obese candy-fed rats, whereas a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, vildagliptin, does not. **Diabetes**, v. 56, n. 1, p. 8–15, 2007.

REIS, A. F.; VELHO, G. Patologia molecular do receptor de sulfoniluréia (SUR1). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 6, p. 382, 2000.

RIBEIRO, C. et al. Effects of physical training with different intensities of effort on lipid metabolism in rats submitted to the neonatal application of alloxan. **Lipids in health and disease**, v. 11, p. 138, 2012.

RICHTER, E. A.; RUDERMAN, N. B. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. **The Biochemical journal**, v. 418, n. 2, p. 261–75, 2009.

RONG, X. et al. Angiotensin II type 1 receptor-independent beneficial effects of telmisartan on dietary-induced obesity, insulin resistance and fatty liver in mice. **Diabetologia**, v. 53, n. 8, p. 1727–1731, 2010.

ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R. DA; MORAES, C. DE. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383–387, 2012.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Obesity research**, v. 5, n. 6, p. 650–656, 1997.

SAGAE, S. C. et al. Prevention of metabolic disorders and reproductive performance deficits by the blockade of Angiotensin II AT1 receptor in female rats fed with cafeteria diet. **Physiology and Behavior**, v. 119, p. 1–8, 2013.

SAMPEY, B. P. et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: Comparison to high-fat diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.

SAMPEY, B. P. et al. Metabolomic profiling reveals mitochondrial-derived lipid biomarkers that drive obesity-associated inflammation. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. 1–10, 2012.

SCOMPARIN, D. X. et al. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium l-glutamate-obesity onset in mice. **Life Sciences**, v. 79, n. 22, p. 2151–2156, 2006.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite**, v. 52, n. 1, p. 34–38, 2009.

SILVA, BÁRBARA V. et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores

químicos. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 453–469, 2009.

SOUZA, F. DE. **Indução De Obesidade Em Ratos Através Do Glutamato Monossódico. Avaliação Biométrica**. 1999. Dissertação (Mestrado em clínica cirúrgica) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

SUÁREZ-GARCÍA, S. et al. Impact of a cafeteria diet & daily physical training on the rat serum metabolome. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–19, 2017.

SUN, J. et al. PTP1B , A Potential Target of Type 2 Diabetes Mellitus. **Molecular Biology**, v. 5, n. 4, p. 2–7, 2016.

SWIERCZYNSKA, M. M.; MATESKA I.; PEITZSCH M. et al. Changes in morphology and function of adrenal cortex in mice fed a high-fat diet. **International Journal of Obesity (Lond)** v 39, p. 321-330, 2015.

TÓFOLO, L. P. et al. Short-term moderate exercise provides long-lasting protective effects against metabolic dysfunction in rats fed a high-fat diet. **European Journal of Nutrition**, v. 54, n. 8, p. 1353–1362, 2015.

VAN CAN, J. et al. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. **International Journal of Obesity**, v. 38, n. 6, p. 784–793, 2014.

VECHETTI-JUNIOR, M. A. et al. Effects of swim training on liver carcinogenesis in male Wistar rats fed a low-fat or high-fat diet. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v. 37, n. 6, p. 1101–1109, 2012.

VRANG, N. et al. The effects of 13 wk of liraglutide treatment on endocrine and exocrine pancreas in male and female ZDF rats: a quantitative and qualitative analysis revealing no evidence of drug-induced pancreatitis. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 303, n. 2, p. E253–E264, 2012.

WANG, J. et al. Improvement of liquid fructose-induced adipose tissue insulin resistance by ginger treatment in rats is associated with suppression of adipose macrophage-related proinflammatory cytokines. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

WIT, H. M. DE et al. Liraglutide reverses pronounced insulin-associated weight gain, improves glycaemic control and decreases insulin dose in patients with type 2 diabetes: A 26 week, randomised clinical trial (ELEGANT). **Diabetologia**, v. 57, n. 9, p. 1812–1819, 2014.

YOSHIOKA, K.; YOSHIDA, T.; KONDO, M. Reduced Brown Adipose Tissue Thermogenesis and Metabolic Rate in Pre-Obese Mice Treated with Monosodium-L-Glutamate subsequently. **Endocrinol. Japon.**, v. 38, n. 1, p. 75–79, 1991.

YU, X. et al. Leptinomimetic effects of the AMP kinase activator AICAR in leptin-resistant rats: Prevention of diabetes and ectopic lipid deposition. **Diabetologia**, v. 47, n. 11, p. 2012–2021, 2004.

ZHENG, J. et al. Liraglutide prevents fast weight gain and β Wuhan, Hubei-cell dysfunction in male catch-up growth rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 240, n. 9, p. 1165–1176, 2015.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO CEUA

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAL**

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo CEUA – 027/2014

Protocolo UEPG – 5330/2014

Título – Projeto de Pesquisa: "Avaliação do Efeito Protetor do GLP1 Associado ao Exercício Físico no Pâncreas de Ratos Obesos Submetidos à Dieta de Cafeteria".
Interessada: Dionísia Xavier Scomparin. Decisão: aprovada a utilização de 80 (oitenta) ratos.

Data de Entrada – 03/04/2014

Resultado: Aprovado

Data/Prazo – 23/03/2014 a 23/03/2016

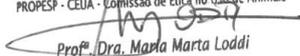
Considerações

Prezado Professor,

Em relação a utilização de animais no protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade, a CEUA deliberou pela sua aprovação, por dois anos, do uso de 80 (oitenta) ratos.

- APROVADO.

Atenciosamente,

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROPESP - CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Prof.ª Dra. Maria Marta Loddi
Coordenadora

Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, CEP 84.030-900 Campus Universitário em Uvaranas
Ponta Grossa – Paraná
Bloco da Reitoria - anexo a PROPESP
Fone: (042) 3220-3264