

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

TOMMASO DE LIRA

**EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA FUNÇÃO
MITOCONDRIAL E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MÚSCULO
SÓLEO: ESTUDO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS SWISS
ALBINOS**

CRICIÚMA, JULHO DE 2025

TOMMASO DE LIRA

**EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA FUNÇÃO
MITOCONDRIAL E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MÚSCULO
SÓLEO: ESTUDO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS SWISS
ALBINOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira

CRICIÚMA, JULHO DE 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M775a Lira, Tommaso de.

Efeitos do enriquecimento ambiental na função mitocondrial e capacidade antioxidante do músculo sóleo : estudo experimental em camundongos Swiss albinos / Tommaso de Lira. - 2025.

48 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.

Orientação: Paulo Cesar Lock Silveira.

1. Músculos esqueléticos. 2. Enriquecimento ambiental - Efeito fisiológico. 3. Mitocôndrias. 4. Estilo de vida sedentário. 5. Metabolismo. I. Título.

CDD. 22. ed. 611.73

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



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

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 479

Com início às 10 (dez) horas do dia 22 (vinte e dois) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 202/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **TOMMASO DE LIRA**, sob a orientação do **Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira**, intitulada “**EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA FUNÇÃO MITOCONDRIAL E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MÚSCULO SÓLEO: ESTUDO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS SWISS ALBINOS**”. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Josiane Budni (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Profa. Dra. Fernanda Dal’Maso Camera (Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: **APROVADO**, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 12h (doze) horas, dos quais eu, Henrique Manenti Felisberto, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 22 (vinte e dois) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco).

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSIANE BUDNI
Data: 24/07/2025 12:14:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS

Documento assinado digitalmente
gov.br HENRIQUE MANENTI FELISBERTO
Data: 24/07/2025 13:17:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Henrique Manenti Felisberto
Secretário do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da UNESC.

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta jornada representa muito mais do que a realização de um objetivo acadêmico. É a materialização de um sonho iniciado em 2001 e que só se tornou possível graças ao amor, à força e à presença daqueles que caminharam ao meu lado.

A Deus, que esteve presente em cada etapa desta caminhada, guiando meus passos com luz, esperança e propósito. Sem Sua força e amparo, este caminho teria sido muito mais árduo. Tudo o que conquistei tem a marca da fé que me sustenta.

À minha querida esposa, Aleida, minha parceira de vida, amor e construção. Sua paciência nas minhas ausências, sua força nos meus silêncios e seu amor constante foram as bases que sustentaram este percurso. Este título é também seu — reflexo do que construímos juntos, dia após dia. Obrigado por tudo, meu amor.

Aos meus filhos, Samuca e Lulu, razão maior dos meus esforços e inspiração diária. O desejo de ser um exemplo para vocês me impulsiona a continuar sempre. Vocês são meu maior tesouro.

Aos meus pais e irmãs, pela presença constante, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem em mim. Vocês são meu porto seguro desde o início da vida, e tudo o que sou carrega o reflexo dos valores que me ensinaram.

Ao professor Paulo César Lock Silveira, meu orientador, expresse minha mais sincera gratidão. Sua escuta generosa, sua orientação firme e ao mesmo tempo acolhedora, e sua confiança no meu potencial foram determinantes para que eu alcançasse este marco. Que nossa parceria siga rendendo bons frutos.

Aos amigos Rafahel e Bárbara, pela leveza, pelas risadas, pelo apoio constante e pelas palavras que chegaram nos momentos certos. Nossa amizade foi uma âncora e um sopro de alegria ao longo do caminho.

Aos colegas que conheci no PPGCS, com quem compartilhei aprendizados, desafios e conquistas: obrigado por cada troca, cada incentivo e cada momento de companheirismo. Vocês tornaram esta jornada muito mais rica e significativa.

Aos amigos do laboratório, meu muito obrigado por cada troca, cada ajuda, cada puxão de orelha e cada risada no meio do caos. Vocês fizeram os dias mais leves e essa caminhada muito mais divertida. A ciência foi coletiva — e a loucura também. Que sorte a minha ter dividido isso com vocês.

***“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.” — Cora
Coralina***

RESUMO

A inatividade física constitui um problema de saúde pública global que compromete fundamentalmente a função mitocondrial e o sistema antioxidante do músculo esquelético, estabelecendo base fisiopatológica para o desenvolvimento de doenças metabólicas. O enriquecimento ambiental (EA) emerge como estratégia promissora por integrar estímulos multissensoriais que promovem atividade física espontânea e adaptações metabólicas coordenadas, distinguindo-se do exercício físico isolado. Apesar de ser um tipo de abordagem consolidada, estudos sobre seus efeitos na função mitocondrial e capacidade antioxidante muscular permanecem limitados. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do EA na função mitocondrial e capacidade antioxidante do músculo sóleo em camundongos Swiss albinos. Foram utilizados 40 camundongos Swiss albinos machos, com 21 dias de idade, distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Sham (n=20) mantido em condições padrão de laboratório e Enriquecimento Ambiental (n=20) alojado em ambiente expandido equipado com rodas de exercício, túneis, objetos manipuláveis e estimulação social por 63 dias consecutivos. Foram avaliados parâmetros metabólicos incluindo peso corporal, massa de tecido adiposo visceral e colesterol sérico total, atividade da cadeia respiratória mitocondrial através dos complexos I, II e IV, e marcadores de estresse oxidativo compreendendo substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), grupos sulfidril não proteicos (NPSH), atividade da superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) no músculo sóleo. Os dados foram analisados por ANOVA seguida de teste post hoc de Tukey, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$. O grupo EA apresentou redução significativa no peso corporal, massa de tecido adiposo visceral e colesterol sérico total; aumento na atividade dos complexos mitocondriais I, II e IV, com o Complexo II apresentando a adaptação mais pronunciada; e fortalecimento do sistema antioxidante com elevação da atividade da SOD e GPx, aumento dos níveis de NPSH e redução dos níveis de TBARS comparado ao grupo Sham ($p < 0,05$). Nossos resultados demonstram que o enriquecimento ambiental foi capaz de promover adaptações funcionais coordenadas que transcenderam o nível celular, estabelecendo correlações diretas entre melhorias metabólicas sistêmicas, mitocondriais e antioxidantes, confirmando sua eficácia como estratégia não-farmacológica para otimização da saúde metabólica.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental; Função mitocondrial; Sistema antioxidante; Músculo esquelético; Metabolismo.

ABSTRACT

Physical inactivity constitutes a global public health issue that fundamentally impairs mitochondrial function and the antioxidant system of skeletal muscle, establishing a pathophysiological basis for the development of metabolic diseases. Environmental enrichment (EE) emerges as a promising strategy by integrating multisensory stimuli that promote spontaneous physical activity and coordinated metabolic adaptations, distinguishing it from isolated physical exercise. Although it is a well-established approach, studies on its effects on mitochondrial function and muscle antioxidant capacity remain limited. This study aimed to evaluate the effect of EE on mitochondrial function and antioxidant capacity of the soleus muscle in Swiss albino mice. Forty male Swiss albino mice, 21 days old, were randomly assigned to two groups: Sham (n=20), maintained under standard laboratory conditions, and Environmental Enrichment (n=20), housed in an expanded environment equipped with exercise wheels, tunnels, manipulable objects, and social stimulation for 63 consecutive days. Metabolic parameters were assessed, including body weight, visceral adipose tissue mass, and total serum cholesterol; mitochondrial respiratory chain activity through complexes I, II, and IV; and oxidative stress markers, including thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), non-protein sulfhydryl groups (NPSH), and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) in the soleus muscle. Data were analyzed using ANOVA followed by Tukey's post hoc test, with a significance level set at $p < 0.05$. The EE group showed a significant reduction in body weight, visceral adipose tissue mass, and total serum cholesterol; increased activity of mitochondrial complexes I, II, and IV, with Complex II showing the most pronounced adaptation; and enhancement of the antioxidant system with elevated SOD and GPx activities, increased NPSH levels, and reduced TBARS levels compared to the Sham group ($p < 0.05$). Our results demonstrate that environmental enrichment could promote coordinated functional adaptations that transcended the cellular level, establishing direct correlations between systemic, mitochondrial, and antioxidant metabolic improvements, confirming its efficacy as a non-pharmacological strategy for optimizing metabolic health.

Keywords: Environmental enrichment; Mitochondrial function; Antioxidant system; Skeletal muscle; Metabolism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Protocolo de Enriquecimento Ambiental (EA)	14
Figura 2. Linha do Tempo experimental.....	23
Figura 3. Parâmetros corporais e metabólicos	31
Figura 4. Atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons	32
Figura 5. Efeitos do tratamento EA sobre os marcadores de dano oxidativo	33

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
AMP	Adenosina monofosfato
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
Ca ²⁺	Íon cálcio
cDNA	DNA complementar
CI	Intervalo de confiança
CO ₂	Dióxido de carbono
CoQ	Coenzima Q
DCIP	2,6-diclorofenolindofenol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico
EA	Enriquecimento ambiental
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Environmental enrichment
ELISA	Ensaio de imun absorção enzimática
EPM	Erro padrão da média
FAD	Flavina adenina dinucleotídeo (forma oxidada)
FADH ₂	Flavina adenina dinucleotídeo (forma reduzida)
FDA	Food and Drug Administration
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GPx	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HEPES	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC ₅₀	Concentração inibitória de 50%
IMC	Índice de massa corporal
K ⁺	Íon potássio
kb	Quilobase
kDa	Quilodalton
K _m	Constante de Michaelis
Mg ²⁺	Íon magnésio
mM	Milimolar
mRNA	RNA mensageiro
Na ⁺	Íon sódio
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma oxidada)
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (forma reduzida)

NBR	Norma Brasileira
NCD	Doenças não transmissíveis
NIH	National Institutes of Health
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
pKa	Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida
qPCR	PCR quantitativo em tempo real
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
rpm	Rotações por minuto
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de PCR
SD	Desvio padrão
SDS-PAGE	Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio
SEM	Erro padrão da média
SOD	Superóxido dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TAV	Tecido Adiposo Visceral
TCA	Ácido tricloroacético
UNESCO	Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura
UV	Ultravioleta
Vmax	Velocidade máxima
VO2	Consumo de oxigênio
WHO	World Health Organization
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
1.1 SEDENTARISMO E OBESIDADE: PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO.....	12
1.2 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL	13
1.3 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS.....	16
1.4 ADAPTAÇÕES MITOCONDRIAS E SISTEMA ANTIOXIDANTE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO	17
1.5 CORRELAÇÕES ENTRE FUNÇÃO MITOCONDRIAL MUSCULAR E METABOLISMO SISTÊMICO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. METODOLOGIA	22
3.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS	22
3.2 ANIMAIS.....	22
3.3 PROTOCOLO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.....	23
3.4 EUTANÁSIA.....	24
3.5 PARÂMETROS METABÓLICOS	25
3.5.1 Monitoramento do peso corporal.....	25
3.5.2 Determinação do colesterol sérico.....	25
3.5.3 Quantificação do tecido adiposo	26
3.6 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL	26
3.6.1 Atividade do complexo I	26
3.6.2 Atividade do complexo II	26
3.6.3 Atividade do complexo IV.....	27
3.7 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	27
3.7.1 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .	27
3.7.2 Determinação de grupos sulfidrilas não proteicos (NPSH).....	28
3.7.3 Atividade da superóxido dismutase (SOD)	29
3.7.4 Atividade da glutathione peroxidase (GPx).....	29

3.8 CONTEÚDO DE PROTEÍNAS	30
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
4. RESULTADOS.....	31
4.1 PARÂMETROS METABÓLICOS.....	31
4.2 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL	31
4.3 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	33
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 SEDENTARISMO E OBESIDADE: PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO

A inatividade física representa um dos principais fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis em escala global. A Organização Mundial da Saúde (OMS) revelou que, em 2022, aproximadamente 31% da população mundial não atingiu os níveis recomendados de atividade física, e projeta um aumento de 35% até 2030 (OMS, 2024). Paralelamente, a obesidade alcançou patamares epidêmicos, uma vez que mais de um bilhão de indivíduos em todo o mundo se encontra nessa condição de sobrepeso. Esse dado alarmante reflete um crescimento significativo, pois o número de adultos que sofrem de obesidade quase dobrou desde o ano de 1990. Essa situação revela a gravidade do problema e suas repercussões para a saúde pública (Ncd risk factor collaboration, 2024).

No Brasil, os dados epidemiológicos indicam uma situação preocupante. O Sistema Vigitel, 2024 revelou que somente 40,6% da população se exercita de forma regular, ao passo que dados do SESI mostram que 52% da população raramente ou nunca participam de atividades físicas organizadas (Sturm, 2025). Ao relacionarmos esses dados à obesidade, essa condição aumentou 72% ao longo de treze anos, passando de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019. Dados recentes indicam que 61,4% da população está com sobrepeso e 24,3% vivem com obesidade (OMS, 2024).

As estimativas epidemiológicas são alarmantes: pesquisas indicam que até 2044, 48% dos brasileiros adultos estarão obesos isto posiciona o Brasil entre os países mais afetados globalmente (Fiocruz, 2024). Essa tendência caracteriza o que os especialistas chamam de "sindemia", que é a interação entre sedentarismo e obesidade, em que ambas as condições se intensificam mutuamente (Sturm, 2025).

O efeito combinado entre sedentarismo e obesidade aumenta consideravelmente o risco de doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, demência e vários tipos de câncer, além de afetar a integridade da pele e seus anexos e a capacidade de cicatrização (Xia et al., 2019; Carbone et al., 2019; Hirt et al., 2019). As consequências econômicas são graves, com custos globais projetados em 3 trilhões de dólares por ano até 2030. Esses custos não incluem apenas gastos médicos diretos, mas também perdas significativas em produtividade e qualidade de

vida (OMS, 2024).

Em função dessa grave crise epidemiológica e das limitações das abordagens convencionais que se baseiam apenas na prescrição isolada de exercícios físicos, é de suma importância explorar formas de prevenção que superem os modelos convencionais e atendam às demandas reais da saúde da população. Neste cenário, o enriquecimento ambiental (EA) surge como uma alternativa promissora ao incorporar estímulos multissensoriais que incentivam a atividade física espontânea e adaptações metabólicas de maneira natural e sustentável. Isso oferece uma oportunidade única para reverter os mecanismos fisiopatológicos ligados ao sedentarismo e à obesidade, por meio da ativação simultânea de diversos sistemas fisiológicos.

1.2 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

O enriquecimento ambiental (EA) se baseia nos estudos iniciais de Hebb (1947), que mostrou que ratos criados em ambientes complexos apresentavam melhor desempenho do que aqueles mantidos em condições padrão de laboratório. A definição atual se expandiu para incluir a estimulação multissensorial, na qual o ambiente criado serve para maximizar os estímulos sensoriais, cognitivos, motores e sociais. Ao contrário do exercício físico isolado, essa abordagem estimula corpo e mente de forma simultânea e natural, pois incorpora elementos que ativam ao mesmo tempo diversos sistemas fisiológicos (Costa et al., 2023; Penna et al., 2021; Singhal, 2024; Oppici et al., 2025).

Ela influencia positivamente o funcionamento do organismo ao modular a expressão de genes ligados à saúde e ao equilíbrio fisiológico, melhorando as condições ambientais e potencializando repertórios comportamentais específicos da espécie (Singhal, 2024; Baune, 2024; Oppici et al., 2025). Evidências científicas mostram que o EA tem efeitos neuroprotetores e neuroregenerativos, isto melhora as funções cognitivas e locomotoras, e causa mudanças na neuroplasticidade, além de aumentar a angiogênese e a neurogênese, e alterar a expressão gênica (Penna et al., 2021; Huang et al., 2024; Oppici et al., 2025).

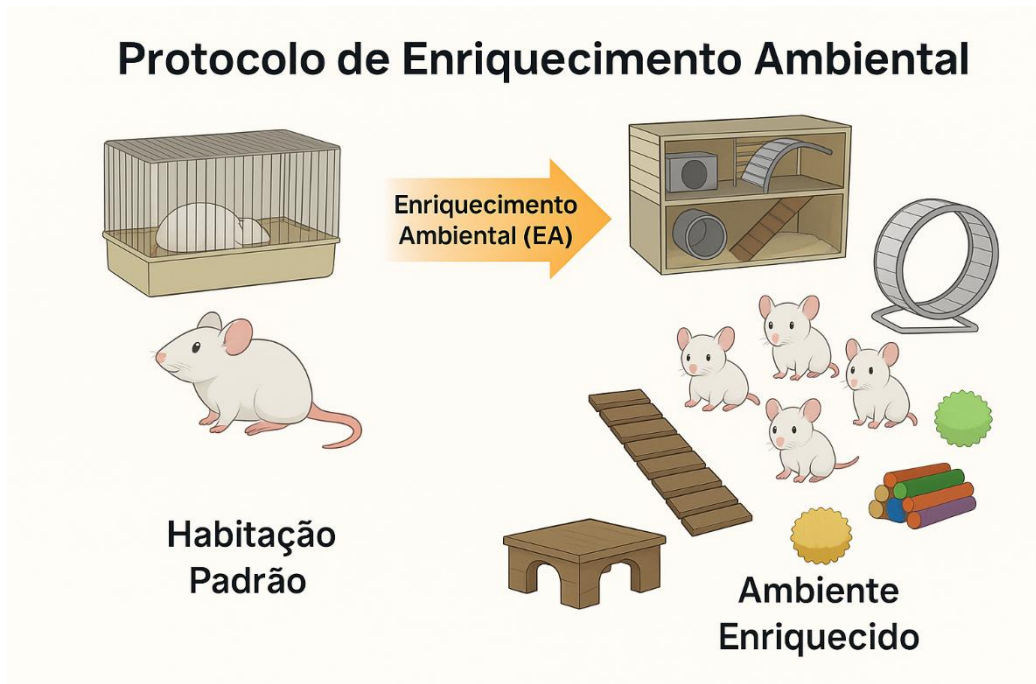


Figura 1. Protocolo de enriquecimento ambiental (EA). A figura ilustra a comparação entre a habitação padrão (esquerda), caracterizada por gaiola simples com estímulos mínimos e alojamento individual, e o ambiente enriquecido (direita), que apresenta gaiola ampliada contendo múltiplos elementos de estimulação: rodas de exercício, túneis, estruturas para escalada, materiais para construção de ninhos, objetos manipuláveis e alojamento social. O EA promove estimulação física, cognitiva, sensorial e social dos animais experimentais. Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

O EA oferece condições que despertam o interesse pela atividade física de forma natural e espontânea, diferenciando-se qualitativamente do exercício imposto por ser voluntário, contextualizado e incorporado a estímulos cognitivos e sociais (Briones et al., 2013; Huang et al., 2024; Oppici et al., 2025). A atividade física espontânea favorece principalmente as vias de sinalização que são mediadas por baixas concentrações de cálcio e estímulos intermitentes de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esses estímulos ativam gradualmente o PGC-1 α e regulam fatores de transcrição como FOXO e Nrf2, favorecendo adaptações celulares positivas. Esse processo contrasta com o exercício físico forçado, que costuma gerar maior estresse oxidativo e ativar respostas inflamatórias no organismo.

A hormese molecular é um fenômeno que se caracteriza pela resposta adaptativa das células a estímulos oxidativos de baixa intensidade. Nesse processo, a exposição controlada em baixos estímulos da ROS induz a fosforilação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e eleva a expressão de sirtuínas, enzimas que regulam o metabolismo celular. Essas vias de sinalização promovem a biogênese mitocondrial e a produção de enzimas antioxidantes endógenas, além de ativar

processos de reparo celular. Ao contrário do estresse oxidativo patológico, a hormese não causa danos celulares significativos, mas cria um estado de resistência que prepara as células para lidar com estresses oxidativos mais severos no futuro (Merry, 2016; Huang et al., 2024; ONU et al., 2025; Joseph et al., 2016).

Desde os estudos iniciais, os protocolos experimentais de EA evoluíram consideravelmente, integrando componentes específicos que potencializam os estímulos sensoriais, motores e cognitivos. O protocolo padrão atual abrange rodas de corrida para atividade física voluntária, túneis e esconderijos que imitam o comportamento natural de exploração, objetos de madeira e plástico texturizados para estimulação tátil, além de material de nidificação que possibilita comportamentos característicos da espécie (Briones et al., 2013; Costa et al., 2023; Huang et al., 2024). Para induzir adaptações profundas, a duração ideal de exposição varia de 8 a 12 semanas. Entretanto, estudos mostram que exposições de 63 dias são suficientes para causar mudanças significativas na função mitocondrial e no sistema antioxidante muscular (Costa et al., 2023; Huang et al., 2024).

O EA é uma condição que requer uma alta demanda energética devido ao aumento da atividade sináptica e motora. Ele oferece um mecanismo de transdução energética que permite que o ATP produzido nas mitocôndrias seja transferido de forma eficiente para os locais de maior consumo energético. Isso cria um modelo integrado que simula as condições naturais de estimulação ambiental e a demanda metabólica elevada de forma contínua (Briones et al., 2013; Huang et al., 2024).

Para compreender de que maneira o EA pode atenuar os efeitos nocivos do sedentarismo, é fundamental, primeiramente, esclarecer os mecanismos fisiopatológicos que demonstram como a ausência de atividade física impacta a função muscular e metabólica. Esta compreensão oferece os fundamentos teóricos necessários para identificar os alvos moleculares específicos em que o EA atua. A falta de atividade física provoca uma série de mudanças fisiopatológicas que afetam principalmente a função muscular esquelética. O músculo esquelético, que compõe 40% da massa corporal total, tem um papel fundamental no metabolismo energético e é o alvo principal das disfunções metabólicas ligadas ao sedentarismo (Fluck, 2003; Lumini, 2008).

1.3 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

A falta de atividade física influencia vários aspectos da fisiologia muscular, incluindo a redução da capacidade oxidativa das mitocôndrias, a diminuição da sensibilidade à insulina e alterações na composição das fibras musculares. Esses fatores criam uma base fisiopatológica para o surgimento de doenças metabólicas (Larsen et al., 2012; Powers et al., 2020; Chen et al., 2024; Cichoń-Woźniak et al., 2024; Bishop, 2025). Situada na membrana interna da mitocôndria, a cadeia respiratória mitocondrial representa o sistema central de produção de energia celular e é o principal alvo das mudanças causadas pela falta de atividade física. Os complexos I, II e IV dessa cadeia apresentam uma redução considerável em sua atividade durante o sedentarismo o que leva a um aumento na produção de ROS como subproduto metabólico. A síntese de ATP é afetada quando a disfunção dos complexos respiratórios diminui o gradiente eletroquímico de prótons na membrana mitocondrial interna o que restringe a atividade da ATP sintase. Ao mesmo tempo, o aumento na produção de ROS ocorre devido ao vazamento de elétrons dos complexos I e III para o oxigênio molecular, tendo como resultado a formação de superóxido e outras espécies reativas que conseguem escapar dos mecanismos antioxidantes das células (Larsen et al., 2012; Acin-Perez, 2014; Cogliati et al., 2016; Rodriguez-Nuevo et al., 2025).

Essa disfunção nos complexos respiratórios estabelece um ciclo vicioso no qual a redução da eficiência energética provoca uma maior dependência de vias glicolíticas, que são menos eficazes, perpetuando o desequilíbrio metabólico, o que favorece o desenvolvimento de resistência à insulina e o acúmulo de gordura corporal (Powers et al., 2020; Chen et al., 2024). A dependência dessas vias glicolíticas se mostra quando a disfunção mitocondrial obriga o metabolismo celular a recorrer à glicólise anaeróbica, que gera apenas 2 ATP por molécula de glicose, contrastando com os 36-38 ATP produzidos pela fosforilação oxidativa. Isso resulta em acúmulo de lactato e a ativação de vias inflamatórias que levam à fosforilação inibitória do IRS-1. Ao mesmo tempo, o aumento da demanda por glicose estimula a lipogênese de novo e diminui a β -oxidação, favorecendo o acúmulo de lipídios (Powers et al., 2020; Chen et al., 2024).

O sistema antioxidante muscular é essencial para a proteção contra os danos oxidativos causados pela disfunção mitocondrial. As enzimas superóxido dismutase

(SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) representam as principais defesas contra a ROS, ao passo que os sistemas não enzimáticos, como a glutathiona reduzida (GSH), funcionam como uma reserva antioxidante nas células. Bioquimicamente, a SOD acelera a conversão do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular. Por outro lado, a GPx utiliza a glutathiona reduzida (GSH) como doadora de elétrons para transformar H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos em água e álcoois. Esse processo regenera a glutathiona oxidada (GSSG), que é reduzida pela glutathiona redutase em um ciclo dependente de NADPH. Dessa forma, mantém-se o equilíbrio redox celular, prevenindo danos oxidativos às membranas, proteínas e DNA (Steinbacher, 2015; Powers, 2008; Merry, 2016; Powers, et al., 2020).

A inatividade física prejudica a eficácia desse sistema de defesa, levando ao acúmulo de produtos de peroxidação lipídica. Isso pode ser mostrado pelo aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e pela diminuição dos grupos sulfidril não proteicos (NPSH), que são indicadores da capacidade antioxidante total (Steinbacher, 2015). Essa desregulação do equilíbrio redox muscular não só afeta a função local do tecido, mas também está ligada a alterações sistêmicas que caracterizam uma síndrome metabólica. Isso estabelece a base fisiopatológica para entender como intervenções que ajustam a função mitocondrial e a capacidade antioxidante podem reverter esses processos prejudiciais (Powers et al., 2020).

1.4 ADAPTAÇÕES MITOCONDRIAIS E SISTEMA ANTIOXIDANTE NO MÚSCULO ESQUELÉTICO

O músculo esquelético é o principal tecido que responde aos estímulos do EA, sendo que as fibras tipo I (oxidativas) apresentam maior sensibilidade às mudanças mitocondriais em relação às fibras tipo II (glicolíticas). Essa particularidade justifica a escolha do músculo sóleo como modelo experimental, em virtude de sua composição majoritariamente oxidativa e elevada densidade mitocondrial (Lumini, 2008; Huang et al., 2024).

A conexão entre o EA e o metabolismo muscular esquelético está na habilidade dos estímulos multissensoriais em provocar adaptações metabólicas coordenadas. Evidências sugerem que o EA causa mudanças importantes no metabolismo energético celular, como melhorar o uso de substratos, otimizar a composição corporal

e prevenir o ganho de peso. Isso acontece por meio de processos que incluem o aumento do gasto energético e a regulação do metabolismo lipídico (Huang et al., 2024; Joseph et al., 2016).

No âmbito do EA, a relação entre a função mitocondrial e o estresse oxidativo caracteriza o princípio da hormese molecular. Nesse processo, a exposição regulada a níveis reduzidos de ROS atua como um sinalizador, gerando adaptações que são consideradas benéficas para o organismo. Essas adaptações podem facilitar a resposta do sistema às mudanças ambientais e contribuir para a resistência celular. Durante o EA, o aumento temporário de ROS atua como um segundo mensageiro, ativando vias redox sensíveis o que leva a adaptações antioxidantes de longa duração. Essa resposta hormética se diferencia de condições patológicas por ser de forma controlada e adaptada (Merry, 2016; Powers et al., 2020; Onu et al., 2025).

A conexão entre EA e função mitocondrial representa o principal alvo das alterações funcionais observadas. Os complexos I, II e IV, quando demonstram um aumento significativo em sua atividade, são indicadores de que houve uma melhora na produção de ATP, além de propiciar um aprimoramento do metabolismo oxidativo. Isso sugere que esses complexos desempenham um papel fundamental na otimização da biogênese do ATP e na maximização da utilização de oxigênio por parte da célula, o que é crucial para a manutenção das funções celulares e processos metabólicos saudáveis (Lumini, 2008; Larsen et al., 2012; Huang et al., 2024).

O sistema antioxidante muscular reage ao exercício através da superóxido dismutase (SOD). Essa enzima é a primeira linha de defesa antioxidante do corpo. Isoformas da SOD mostram aumento coordenado em sua atividade em resposta ao estresse oxidativo provocado pelo EA, mostrando a adaptabilidade do sistema antioxidante muscular em alta demanda física. O sistema glutatona, regulado pelo EA, melhora a reciclagem enzimática e otimiza a proporção GSH/GSSG. A glutatona peroxidase (GPx) é essencial na redução de hidroperóxidos lipídicos, preservando a integridade das membranas celulares, incluindo a mitocondrial. As adaptações mitocondriais e antioxidantes no músculo esquelético, devido ao enriquecimento ambiental, influenciam também o metabolismo geral do organismo. A relação entre adaptações locais e benefícios gerais ressalta a relevância clínica das pesquisas sobre EA (Powers, 2008; Steinbacher, 2015; Powers, et al., 2020; Niknam et al., 2025; Mcfarlin et al., 2025).

1.5 CORRELAÇÕES ENTRE FUNÇÃO MITOCONDRIAL MUSCULAR E

METABOLISMO SISTÊMICO

Além de sua capacidade contrátil, o músculo esquelético desempenha uma função reguladora sistêmica por meio de mecanismos associados, funcionando como um órgão endócrino. Essa regulação se dá, em parte, por meio da liberação de miocinas – substâncias bioativas que afetam o metabolismo em vários tecidos e órgãos. A eficiência da mitocôndria muscular é fundamental para o gasto energético total do organismo, uma vez que o músculo representa o principal tecido responsável pelo consumo de energia tanto em repouso quanto durante a atividade física. Essa relação baseia-se na capacidade das mitocôndrias musculares de regular a utilização de substratos energéticos, influenciando a liberação de ácidos graxos a partir do tecido adiposo e a preservação da homeostase glicêmica (Lumini, 2008; Powers et al., 2020; Anderson et al., 2025; Goodpaster et al., 2017).

O sistema antioxidante presente nos músculos está associado à homeostase metabólica no organismo, pois oferece proteção contra danos oxidativos que afetam a sensibilidade à insulina e a função endotelial. A eficácia das enzimas antioxidantes presentes nos músculos, em especial a SOD e GPx, contribuem para a manutenção da integridade vascular e para a prevenção de processos inflamatórios relacionados à síndrome metabólica. Essa defesa contra a oxidação muscular traz benefícios ao organismo, como a otimização do perfil lipídico e a redução dos índices de estresse oxidativo presentes na circulação (Powers, 2008; Powers et al., 2020; Limón-Pacheco et al., 2009).

A relação entre o tecido muscular esquelético e o tecido adiposo se dá por mecanismos que englobam a regulação da lipólise e a composição corporal. A eficiência mitocondrial nas fibras musculares influencia a capacidade de oxidação dos ácidos graxos, promovendo a mobilização de lipídios e reduzindo a gordura visceral. Essa conexão evidencia de que maneira as adequações locais na função mitocondrial nos músculos podem ocasionar alterações significativas na composição corporal e no perfil metabólico sistêmico (Powers et al., 2020; San-Millán et al., 2023; Anderson et al., 2025; Supruniuk et al., 2023).

Consequentemente, o gasto energético muscular está relacionado ao balanço energético do corpo através de processos que incluem tanto o metabolismo basal quanto a termogênese adaptativa. O aumento da eficiência mitocondrial favorece uma produção maior de ATP, o que otimiza a utilização de energia e contribui para a

manutenção do peso corporal. Essa conexão temporal entre adaptações celulares e benefícios sistêmicos fundamenta cientificamente a compreensão de como intervenções que ajustam a função mitocondrial muscular podem gerar efeitos metabólicos de alcance sistêmico (Anderson et al., 2025; Goodpaster et al., 2017; Zong et al., 2024).

O aumento do sedentarismo e da obesidade exige a implementação de estratégias preventivas eficientes. O EA, ao utilizar estímulos multissensoriais, tem o potencial de reverter as consequências da falta de atividade física, favorecendo adaptações mitocondriais e antioxidantes no músculo esquelético e melhorando o metabolismo.

A literatura científica já identificou os mecanismos cerebrais pelos quais o EA exerce efeitos neuroprotetores e comportamentais. Estudos realizados ao longo de décadas indicam mudanças moleculares, como o aumento do BDNF, estímulo à neurogênese em adultos, alterações epigenéticas e reestruturação das áreas corticais do cérebro. Ainda não se sabe muito sobre como o EA afeta os mecanismos sistêmicos, especialmente aqueles que controlam a função mitocondrial e a capacidade antioxidante do músculo esquelético. A falta de estudos sobre os efeitos moleculares do EA no músculo esquelético evidencia essa deficiência no conhecimento científico. Huang et al. (2023) conduziram o primeiro estudo transcriptômico, demonstrando que o EA pode impactar as rotas metabólicas ligadas à fosforilação oxidativa e ao ciclo de TCA no músculo. Não foram encontradas pesquisas sobre a capacidade antioxidante muscular no âmbito do EA.

A análise desses mecanismos sistêmicos é importante para esclarecer como essas adaptações celulares locais proporcionam benefícios metabólicos ao organismo, contribuindo para a criação de estratégias terapêuticas baseadas em evidências científicas. Esta pesquisa, que examina os impactos do enriquecimento ambiental na função mitocondrial e na capacidade antioxidante do músculo sóleo, é importante para suprir uma lacuna no conhecimento.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do enriquecimento ambiental no metabolismo, atividade mitocondrial e no sistema antioxidante no músculo sóleo em camundongos albinos Swiss.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o ganho de peso dos animais submetidos ao experimento mediante pesagem durante período de tratamento;
- Quantificar os níveis séricos de colesterol total nos camundongos Swiss albinos;
- Mensurar o peso de tecido adiposo nos camundongos Swiss albinos;
- Analisar atividades de enzimas da cadeia transportadora de elétrons (complexo I e II e IV);
- Dosar o dano oxidativo (MDA) e sistema de defesa antioxidante (SOD, GSH, GPX).

3. METODOLOGIA

3.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

Este projeto foi submetido no Comitê de Ética do Uso de Animais pelo Biotério da Universidade de Santa Catarina (UFSC, Florianópolis, SC, Brasil). Todos os procedimentos utilizados no presente estudo foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas no Guia do NIH para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório e foram aprovados pelo Comitê de Ética local sob o número do protocolo 00795.

3.2 ANIMAIS

Foram utilizados 40 camundongos albinos da linhagem Swiss, do sexo masculino, com idade inicial de 21 dias, pesando entre 30 a 40g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram mantidos em condições ambientais rigorosamente controladas, incluindo temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $55 \pm 10\%$ e ciclo claro-escuro de 12 horas com luz acesa às 7h00, conforme recomendações estabelecidas para manutenção de roedores de laboratório. O período de aclimação de 7 dias foi estabelecido antes do início do protocolo experimental para permitir adaptação dos animais às condições do biotério e minimizar o estresse relacionado ao transporte e mudança de ambiente. Durante este período, os animais foram monitorados diariamente quanto ao comportamento, consumo de ração e água, e sinais de estresse ou doença. Após o período de desmame (21º dia de vida), os animais ($n = 40$) foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais:

- 1. Grupo Sham ($n = 20$);**
- 2. Grupo Enriquecimento Ambiental (EA) ($n = 20$).**

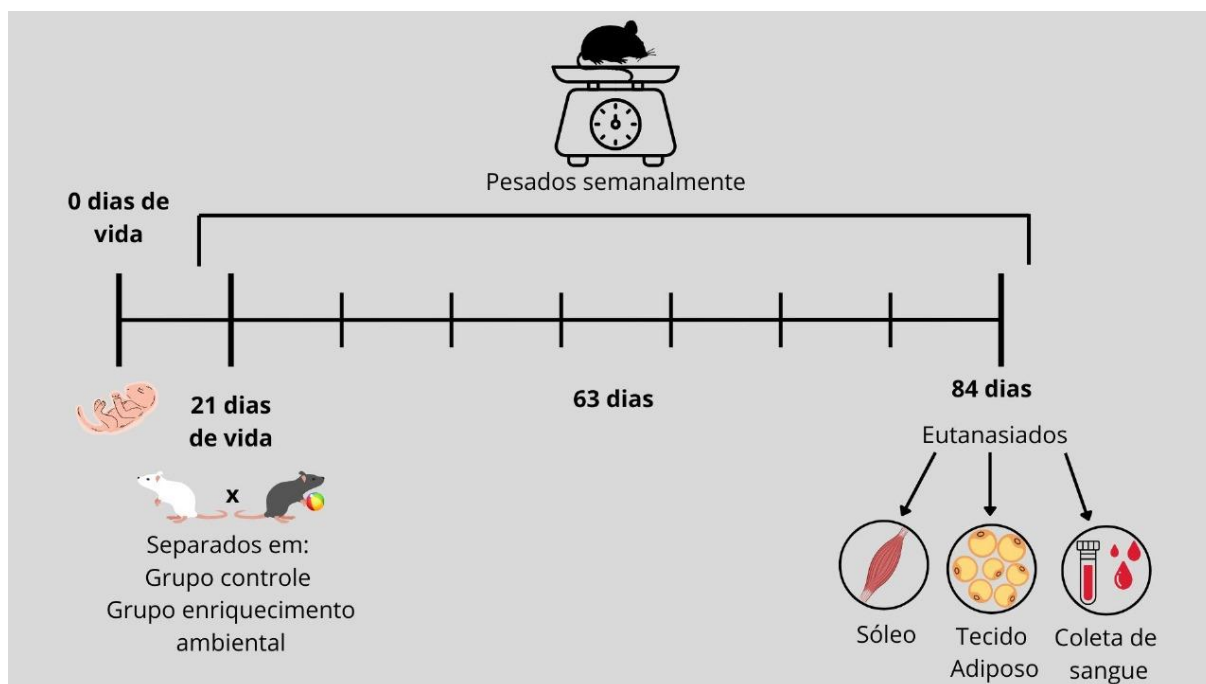


Figura 2. Linha do tempo experimental do estudo. Esquema representativo do delineamento experimental. Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados e alocados aleatoriamente em dois grupos: controle (SHAM) e enriquecimento ambiental (EA). Durante 63 dias, os animais foram pesados semanalmente. Aos 84 dias de vida, foram eutanasiados para coleta dos tecidos (sóleo, tecido adiposo) e amostras sanguíneas para análises posteriores. Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

3.3 PROTOCOLO DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

O Grupo Sham ($n = 20$) foi mantido em condições de alojamento padrão, utilizando caixas de acrílico transparente com dimensões de $42 \times 32 \times 17$ cm, contendo maravalha autoclavada como material de cama. Os animais foram alojados em grupos de 5 por caixa, densidade considerada adequada para prevenir estresse por isolamento social sem causar superpopulação (Randall et al., 2024). As caixas foram posicionadas em estantes ventiladas com sistema de renovação de ar controlado. O Grupo EA ($n = 20$) foi mantido em um sistema de alojamento expandido, composto por uma caixa de acrílico de dimensões idênticas ao grupo controle, interligada através de túneis de PVC a uma gaiola metálica de três andares com dimensões de $28 \times 21 \times 50$ cm. Os animais foram alojados em grupos de 10 por conjunto, permitindo maior interação social e estabelecimento de hierarquias comportamentais mais complexas. O ambiente enriquecido foi equipado com elementos específicos para estimulação sensorial, motora e cognitiva, incluindo dois rodízios metálicos para corrida voluntária (diâmetro de 11 cm), objetos variados confeccionados em madeira não tratada e plástico atóxico (cubos, esferas, cilindros),

túneis de PVC com diferentes diâmetros (3-5 cm), esconderijos em formato de iglus, plataformas em diferentes níveis. A seleção destes elementos baseou-se em protocolos validados que demonstraram eficácia na indução de comportamentos exploratórios e atividade física espontânea (Olsson, 2002; Simpson, 2011).

Para manter a novidade e estimular continuamente comportamentos exploratórios, os objetos e suas posições foram alterados sistematicamente a cada 3-4 dias, seguindo protocolo rotativo pré-estabelecido. Esta rotação incluiu introdução de novos objetos, reposicionamento dos existentes e alteração da configuração espacial dos elementos. O protocolo de rotação foi baseado em estudos que demonstraram a importância da novidade na manutenção da eficácia do enriquecimento ambiental ao longo do tempo (Würbel, 2001; Simpson, 2011).

O tempo total de exposição ao protocolo de enriquecimento foi de 63 dias consecutivos, período estabelecido com base em evidências científicas que demonstram ser suficiente para induzir adaptações significativas na função mitocondrial e sistema antioxidante muscular (Warren et al., 2020; Vezzoli et al., 2014). Durante este período, os animais foram monitorados diariamente quanto ao comportamento, utilização dos elementos de enriquecimento e sinais de estresse ou lesões. Registros comportamentais foram realizados semanalmente durante períodos padronizados para documentar a eficácia do protocolo.

3.4 EUTANÁSIA

Ao término do período experimental de 63 dias, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas com livre acesso à água para padronização dos parâmetros metabólicos. O peso corporal final foi registrado imediatamente antes da eutanásia utilizando balança de precisão calibrada. O procedimento de eutanásia foi realizado por decapitação rápida utilizando guilhotina específica para roedores. Imediatamente após a eutanásia, o músculo sóleo, tecido adiposo das regiões epididimal e perirrenal foram dissecados. O sangue foi coletado em tubos de ensaio sem anticoagulante, subsequentemente, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos a 4°C para separação do soro. Todas as amostras foram armazenadas para posteriores análises bioquímicas.

3.5 PARÂMETROS METABÓLICOS

3.5.1 Monitoramento do peso corporal

O peso corporal foi monitorado semanalmente durante todo o período experimental utilizando balança analítica de precisão (modelo AY220, Shimadzu, Japão) com resolução de 0,1 mg e capacidade máxima de 220 g. As pesagens foram realizadas sempre no mesmo horário (entre 8h00 e 10h00) para minimizar variações circadianas, com os animais em jejum de 2 horas para padronização. O ganho de peso foi calculado como a diferença entre o peso final e inicial, sendo também determinada a taxa de crescimento semanal para avaliação da curva de crescimento.

3.5.2 Determinação do colesterol sérico

A concentração de colesterol sérico foi determinada através de método colorimétrico enzimático utilizando kit comercial específico (Labtest Diagnóstica, Brasil), baseado na reação de Trinder modificada (Trinder, 1969). Este método utiliza sistema enzimático acoplado envolvendo colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase, resultando na formação de complexo colorido proporcional à concentração de colesterol. O protocolo seguiu rigorosamente as especificações do fabricante, com algumas modificações para otimização da precisão. Alíquotas de 10 μ L de soro foram incubadas com 1.000 μ L de reagente enzimático a 37°C por 10 minutos. O reagente contém colesterol esterase (≥ 300 U/L), colesterol oxidase (≥ 250 U/L), peroxidase (≥ 1.000 U/L), 4-aminoantipirina (0,5 mM) e fenol (6 mM) em tampão fosfato pH 7,0. A absorbância foi determinada a 505 nm em espectrofotômetro UV-visível, utilizando branco de reagente e padrão de colesterol 200 mg/dL fornecido pelo kit. A linearidade do método foi verificada até concentrações de 600 mg/dL, adequada para a faixa esperada em camundongos. Os coeficientes de variação intra e interensaio foram inferiores a 3% e 5%, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg/dL, permitindo comparação com valores de referência estabelecidos na literatura.

3.5.3 Quantificação do tecido adiposo

O tecido adiposo visceral foi quantificado através da dissecação e pesagem dos depósitos epididimal e perirrenal, que representam adequadamente a adiposidade visceral em roedores e correlacionam-se com parâmetros metabólicos sistêmicos (Rogers, 1980). A dissecação foi realizada por pesquisador experiente seguindo protocolo anatômico padronizado para garantir reprodutibilidade. O depósito epididimal foi cuidadosamente removido desde a região do epidídimo até a bifurcação dos vasos testiculares, evitando ruptura da cápsula adiposa que poderia resultar em perda de tecido. O depósito perirrenal foi dissecado desde o polo superior do rim até a região lombar, incluindo todo o tecido adiposo circundante ao rim e glândula adrenal. Após a dissecação, os depósitos foram limpos de aderências vasculares e tecido conjuntivo, secos em papel absorvente e pesados imediatamente em balança analítica de precisão. O peso total do tecido adiposo visceral foi calculado como a soma dos depósitos bilateral epididimal e perirrenal.

3.6 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL

3.6.1 Atividade do complexo I

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. Ao meio contendo tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 7,4) e proteínas do homogeneizado foram adicionados NADH 14mM, rotenona 1,0 mM e ferrocianeto (FeCN 10 mM). As absorbâncias foram registradas por 3 minutos a 420nm a 25°C. A atividade do complexo I foi medida através da taxa de NADH-dependente da redução do ferricianeto, que pode ser observada pela diminuição da absorbância (Cassina, 1996). Os dados foram apresentados em $\text{nmol/min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}$.

3.6.2 Atividade do complexo II

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. O meio de incubação foi constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), succinato de sódio (16 mM) e DCIP (8 μM) e as proteínas do homogeneizado incubados a 30°C por 20 minutos. Depois, foi adicionado ao meio 4 mM de azida sódica e 7 mM de rotenona

e a reação iniciou com adição de 40 mM de DCIP. As absorvâncias foram registradas por 5 minutos a 600 nm. A atividade do complexo II foi medida pela diminuição da absorvância causada pela redução do 2,6-dicloroindofenol (Fischer et al., 1985). Os dados foram apresentados em $\text{nmol}/\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}$ proteína.

3.6.3 Atividade do complexo IV

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. A atividade do Complexo IV foi determinada através do método espectrofotométrico baseado na oxidação do citocromo c reduzido, conforme protocolo de Rustin et al. com modificações. O citocromo c foi previamente reduzido através de incubação com ditionito de sódio em excesso, seguido de purificação em coluna de dessalinização para remoção do agente redutor. O grau de redução foi verificado espectrofotometricamente, garantindo redução superior a 95% do citocromo c. O meio de reação foi preparado contendo tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e citocromo c reduzido 50 μM . Alíquotas de 50 μL da fração mitocondrial foram adicionadas a 950 μL do meio de reação pré-aquecido a 25°C. A reação foi iniciada pela adição da amostra e monitorada espectrofotometricamente a 550 nm por 2 minutos, registrando-se a variação de absorvância a intervalos de 10 segundos. A oxidação do citocromo c resulta em diminuição da absorvância característica do citocromo c reduzido. A especificidade da reação foi confirmada através de ensaios na presença de cianeto de potássio 1 mM, inibidor específico do Complexo IV. A atividade específica foi calculada como a diferença entre a atividade total e a atividade resistente ao cianeto. A atividade enzimática foi expressa em nmol de citocromo c oxidado por minuto por mg de proteína, utilizando coeficiente de extinção molar de $18,5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 550 nm.

3.7 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

3.7.1 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. A peroxidação lipídica foi avaliada através da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), método amplamente validado para detecção de

produtos secundários da oxidação lipídica, particularmente malondialdeído (MDA). O protocolo foi baseado no método de Draper e Hadley com modificações para otimização da sensibilidade e especificidade. Alíquotas de 100 µL do homogeneizado foram incubadas com 200 µL de ácido tricloroacético (TCA) 15% (p/v) para precipitação de proteínas e liberação de produtos lipídicos. Após agitação vigorosa e centrifugação a 3.000 × g por 10 minutos, 200 µL do sobrenadante foram transferidos para novos tubos e incubados com 200 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67% (p/v) preparado em ácido acético 50%. A reação foi conduzida em banho-maria a 95°C por 60 minutos, período otimizado para máxima formação do complexo MDA-TBA sem degradação térmica excessiva. Após resfriamento em banho de gelo, as amostras foram centrifugadas a 3.000 × g por 5 minutos para remoção de precipitados. A absorbância foi determinada a 532 nm em espectrofotômetro UV-visível, comprimento de onda específico para o complexo MDA-TBA. A quantificação foi realizada utilizando curva padrão de malondialdeído preparada a partir de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP), que sofre hidrólise ácida gerando MDA em concentrações conhecidas. A curva padrão foi construída com concentrações de 0,5 a 10 µM de MDA, apresentando linearidade adequada ($r^2 > 0,99$). Os resultados foram expressos em nmol de MDA por mg de proteína, permitindo normalização para o conteúdo proteico das amostras.

3.7.2 Determinação de grupos sulfidrilas não proteicos (NPSH)

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. A quantificação de grupos sulfidrilas não proteicas, principalmente glutathiona reduzida (GSH), foi realizada através do método colorimétrico baseado na reação com ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB), também conhecido como reagente de Ellman (Ellman, 1959). Este método fornece medida indireta do status antioxidante celular, uma vez que a glutathiona representa o principal sistema antioxidante não enzimático. Alíquotas de 200 µL do homogeneizado foram precipitadas com 200 µL de ácido tricloroacético (TCA) 10% (p/v) gelado para remoção de proteínas que poderiam interferir na reação. Após agitação vigorosa e incubação em gelo por 10 minutos, as amostras foram centrifugadas a 3.000 × g por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante contendo os grupos sulfidrilas não proteicos foi cuidadosamente coletado. A reação colorimétrica foi iniciada pela adição de 100 µL do sobrenadante a 800 µL de tampão Tris-HCl 0,4 M (pH 8,9) e 20 µL de DTNB 10 mM preparado em metanol. O DTNB

reage especificamente com grupos sulfidrilas livres, formando complexo amarelo com máximo de absorção a 412 nm. A reação foi conduzida em temperatura ambiente por 3 minutos, tempo suficiente para desenvolvimento completo da cor. A absorbância foi determinada a 412 nm em espectrofotômetro UV-visível, utilizando branco contendo todos os reagentes exceto a amostra. A quantificação foi realizada através de curva padrão de cisteína (0,1 a 2,0 mM), que apresenta grupos sulfidrilas livres em concentrações conhecidas. Os resultados foram expressos em μmol de NPSH por mg de proteína, permitindo comparação entre amostras com diferentes conteúdos proteicos.

3.7.3 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. A atividade da SOD foi determinada pela inibição da oxidação da adrenalina. As amostras de plasma foram homogeneizadas em tampão de glicina. Volumes de 5, 10 e 15 μl de amostra foram separados após homogeneização e 5 ml de catalase, 175-185 ml de tampão glicina (0,75 g em 200 ml de água destilada a 32°C, pH 10,2), e 5 μl de adrenalina (60 mM em água destilada mais 15 ml/ml de HCl fumegante) foram adicionados, incubados por 180 segundos em intervalos de 10 segundos e medidos em um leitor SpectraMax i3xELISA a 480 nm. Os valores foram expressos como unidade SOD/mg de proteína (U/mg de proteína) (Bannister, 1987).

3.7.4 Atividade da glutathiona peroxidase (GPx)

A atividade da glutathiona peroxidase foi determinada através do método espectrofotométrico acoplado, baseado na oxidação do NADPH durante a redução da glutathiona oxidada (GSSG) pela glutathiona redutase (Flohé, 1984). Avaliado a partir da homogeneização do músculo sóleo em 1ml de PBS. Este método permite monitoramento contínuo da atividade enzimática através da diminuição da absorbância a 340 nm, comprimento de onda específico para o NADPH. O meio de reação foi preparado contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), EDTA 1 mM, glutathiona reduzida (GSH) 2 mM, glutathiona redutase 1 U/mL, NADPH 0,15 mM e peróxido de hidrogênio 0,5 mM como substrato. Todos os componentes foram preparados frescos e mantidos em gelo até o momento do uso. Alíquotas de 50 μL do

homogeneizado foram adicionadas a 950 µL do meio de reação pré-incubado a 37°C por 2 minutos. A reação foi iniciada pela adição do peróxido de hidrogênio e monitorada espectrofotometricamente a 340 nm por 5 minutos, registrando-se a variação de absorbância a intervalos de 30 segundos. A atividade da GPx foi calculada com base na taxa de oxidação do NADPH, utilizando coeficiente de extinção molar de $6,22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 340 nm. Uma unidade de GPx foi definida como a quantidade de enzima que catalisa a oxidação de 1 µmol de NADPH por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades de GPx por mg de proteína.

3.8 CONTEÚDO DE PROTEÍNAS

O teor de proteína a partir de tecido muscular homogeneizado foi ensaiado utilizando albumina de soro bovino como um padrão, de acordo com Lowry et al. (1951). Após o reagente fosfomolibdico-fosfotúngstico (folin fenol) ser adicionado para ligar-se à proteína o reagente foi lentamente reduzido passando de amarelo para azul e a absorbância foi lida a 750nm.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão médio e analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida do teste post hoc de Tukey. O nível de significância estabelecido para o teste estatístico foi de $p < 0,05$. O pacote estatístico utilizado foi o GraphPad Prism versão 7.

4. RESULTADOS

4.1 PARÂMETROS METABÓLICOS

A Figura 3 apresenta os parâmetros corporais e metabólicos. Na análise do Peso Corporal (g), Figura 3-A, o grupo EA apresentou uma redução significativa em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$). De forma semelhante, a massa de tecido adiposo (g), representada na Figura 3-B, foi significativamente menor no grupo EA em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$). Por fim, na Figura 3-C, o Colesterol Total (mg/dL) também se mostrou significativamente reduzido no grupo EA em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$).

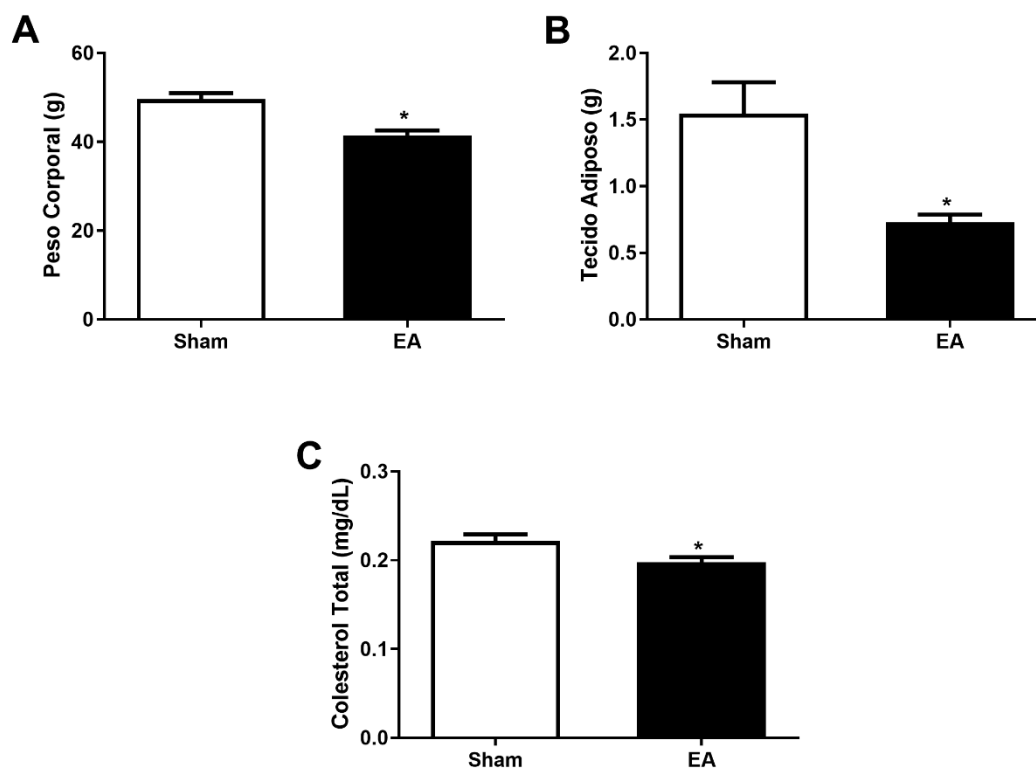


Figura 3. Parâmetros corporais e metabólicos. Peso Corporal (A), Tecido Adiposo (B) e Colesterol Total (C). Os dados são apresentados em Média \pm EPM, no qual: * $p < 0,05$ v.s grupo Sham. (ANOVA de uma via seguido de teste post hoc de Tukey).

4.2 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL

A Figura 4 apresenta a atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons. Na análise da atividade do Complexo I, o grupo EA apresentou um aumento

significativo em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$), conforme ilustra a figura 4-A. O mesmo acontece na atividade do Complexo II (Figura 4-B) e na atividade do Complexo IV (Figura 4-C) que também se mostraram significativamente elevados em comparação ao grupo SHAM ($p < 0,05$).

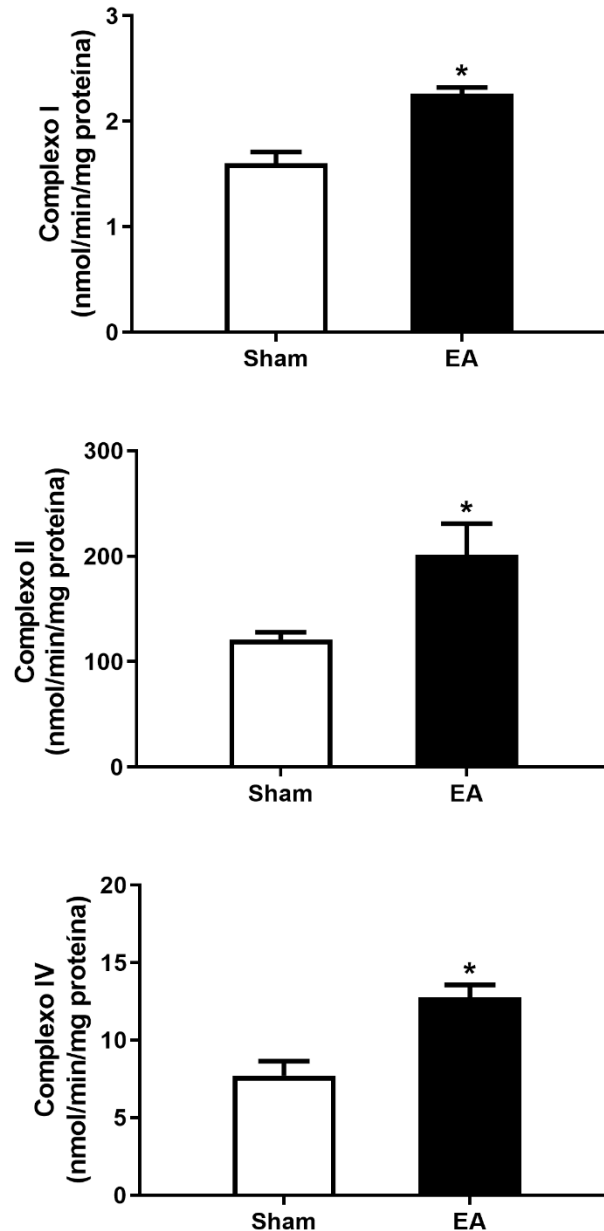


Figura 4. Atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons. Complexo I (A), Complexo II (B) e Complexo IV (C). Os dados são apresentados em Média \pm EPM, no qual: * $p < 0,05$ v.s grupo Sham. (ANOVA de uma via seguido de teste post hoc de Tukey).

4.3 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

A Figura 5 ilustra os marcadores de dano oxidativo e a atividade antioxidante no músculo de camundongos. Conforme demonstrado na Figura 5-A, os níveis de TBARS, marcador de peroxidação lipídica, foram significativamente menores no grupo EA em comparação ao grupo Sham ($p < 0,05$).

A resposta antioxidante foi avaliada por meio dos níveis de NPSH e das atividades da SOD e da GPx. Na Figura 5-B, observa-se um aumento significativo nos níveis de NPSH no grupo EA em relação ao grupo Sham ($p < 0,05$). De modo semelhante, a atividade da enzima SOD foi significativamente elevada no grupo EA, conforme apresentado na Figura 5-C ($p < 0,05$). Por fim, a Figura 5-D revela um aumento significativo na atividade da enzima GPx no grupo EA em comparação ao grupo Sham ($p < 0,05$).

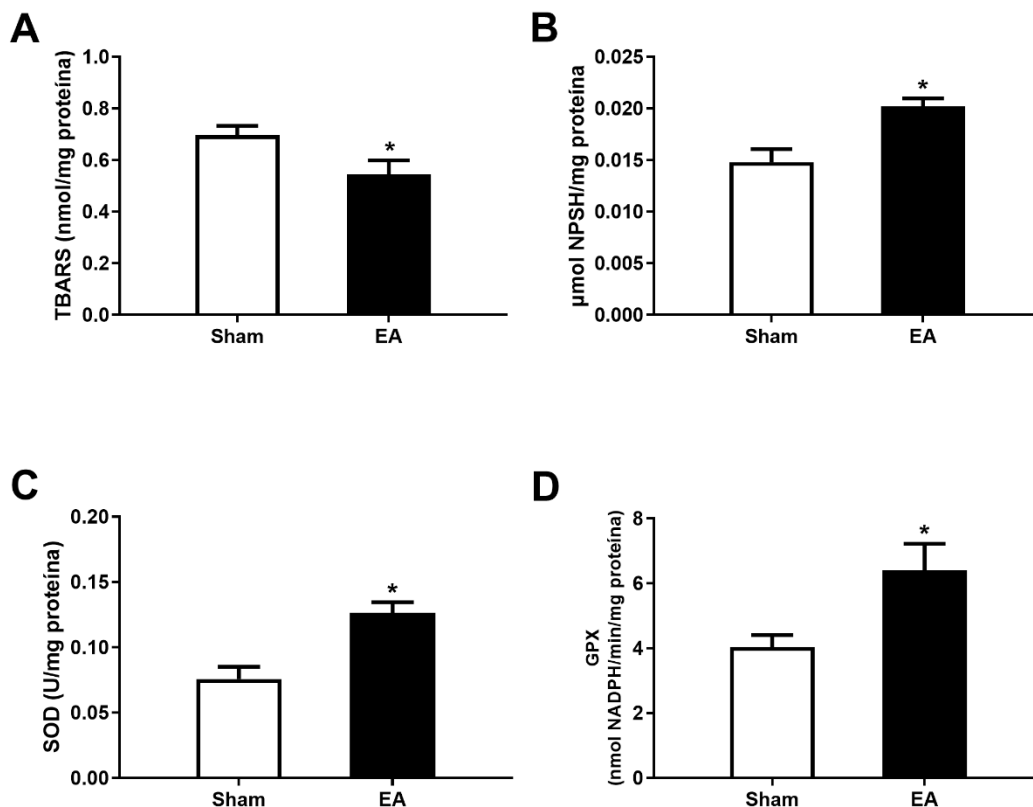


Figura 5. Efeitos do tratamento EA sobre os marcadores de dano oxidativo. TBARS (A), e defesa antioxidante: NPSH (B), SOD (C) e GPX (D). Os dados são apresentados em Média \pm EPM, no qual: * $p < 0,05$ v.s grupo Sham. (ANOVA de uma via seguido de teste post hoc de Tukey).

5. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do EA na função mitocondrial e na capacidade antioxidante do músculo sóleo em camundongos Swiss albinos. É importante esclarecer esses parâmetros, uma vez que a disfunção mitocondrial e o desequilíbrio redox têm um papel central no desenvolvimento de doenças metabólicas ligadas ao sedentarismo e obesidade (Mcmurphy et al., 2018). Para compreender como os estímulos multissensoriais afetam o metabolismo muscular, foram avaliados os parâmetros metabólicos sistêmicos, a atividade da cadeia respiratória mitocondrial e os marcadores de estresse oxidativo em camundongos Swiss albinos expostos a um protocolo de 63 dias de EA. Os resultados demonstraram que o EA proposto foi capaz de promover adaptações coordenadas que envolveram desde a função mitocondrial celular até o metabolismo sistêmico, o que resultou em uma maior eficiência energética corporal e na homeostase metabólica, confirmando o potencial deste tipo de abordagem como estratégia não-farmacológica para a melhoria da saúde metabólica (Manzo et al., 2024).

Mesmo sem restrições alimentares, o grupo submetido ao EA apresentou uma diminuição no peso corporal em relação ao grupo Sham. Essa mudança indica um crescimento no gasto energético total, motivado pelo aumento da atividade física espontânea em resposta aos estímulos do ambiente. Essa via promove o balanço energético negativo ao regular a interação entre o sistema nervoso central e os tecidos periféricos, resultando no aumento da atividade lipolítica e maior consumo de energia. Os resultados obtidos estão compatíveis com estudos que indicaram a ativação de circuitos neurais encarregados da regulação da homeostase energética em resposta a estímulos ambientais enriquecidos (Mcmurphy et al., 2018).

Da mesma forma, o grupo EA apresentou uma diminuição na massa de tecido adiposo visceral analisado, o que representa uma adaptação metabólica importante dentre os parâmetros examinados. Essa redução está de acordo com pesquisas que apresentam reduções de até 60% no tecido adiposo visceral (TAV) como resposta ao EA (Mcmurphy et al., 2018). O TAV apresenta características metabólicas diferentes, como uma atividade lipolítica mais elevada, grande densidade de receptores β 3-adrenérgicos e liberação de mediadores inflamatórios, como TNF- α e IL-6, o que influencia diretamente na homeostase metabólica sistêmica (Manzo et al., 2024).

A mobilização deste tecido adiposo sugere a ativação de processos específicos

voltados para a utilização de lipídios, mediados pela ativação do eixo hipotalâmico-simpatoneuronal-adipócito e facilitados pela melhoria da capacidade oxidativa muscular (Mcmurphy et al., 2018; Huang et al., 2024). Estudos recentes revelam que animais submetidos ao EA apresentam uma redistribuição preferencial da gordura corporal, resultando na redução da inflamação do tecido adiposo e na melhoria do metabolismo glicêmico (Manzo et al., 2024; Souza et al., 2019).

A ativação dos mecanismos do metabolismo lipídico confirma os dados referentes à diminuição dos níveis totais de colesterol sérico no grupo EA, indicando uma melhoria do perfil lipídico sistêmico. Essa mudança pode estar ligada a um aumento na utilização do colesterol para a síntese hormonal, à otimização da função hepática ou a modificações na produção de lipoproteínas. Além disso, pode-se observar uma capacidade maior dos tecidos, especialmente do fígado e dos músculos, em absorver e utilizar as lipoproteínas presentes na corrente sanguínea, em função das adaptações metabólicas identificadas (Souza et al., 2019).

A melhoria do perfil lipídico está em conformidade com alterações metabólicas que favorecem a utilização eficiente de lipídios como fonte de energia. Nesse mecanismo, os ácidos graxos são levados à matriz mitocondrial pelo sistema carnitina-palmitoil transferase e passam por β -oxidação, resultando na produção de acetil-CoA, NADH e FADH₂, que alimentam diretamente o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória mitocondrial. Pesquisas recentes demonstram que alterações nas rotinas de atividade física espontânea e na função mitocondrial exercem influência sobre o processo de metabolização lipídica sistêmica (Brown et al., 2024).

O aumento metabólico sistêmico observado, como a diminuição do peso corporal e do colesterol no sangue, tem como fundamento fisiológico as alterações na cadeia respiratória mitocondrial (Souza et al., 2019). O presente estudo revelou um aumento na atividade do Complexo I no grupo EA em comparação com o grupo Sham. Esse complexo constitui o principal ponto de entrada para a oxidação de substratos energéticos, promovendo a transferência de elétrons do NADH para a ubiquinona e contribuindo para a formação do gradiente eletroquímico através da membrana interna nas mitocôndrias (San-Millán et al., 2023). O aumento da atividade sugere uma melhoria na eficiência dos mecanismos entre a oxidação de substratos e a síntese de ATP, apesar de tal processo poder provocar um aumento temporário na produção de ROS, o que, por sua vez, induz adaptações compensatórias de caráter antioxidante. A literatura científica sugere que a atividade do Complexo I está associada à aptidão

oxidativa dos músculos esqueléticos e à eficiência metabólica energética (Larsen et al., 2012).

O Complexo II apresentou um aumento na atividade no grupo EA. Este complexo exerce uma função dupla, operando simultaneamente no ciclo de Krebs como succinato desidrogenase e na cadeia respiratória, estabelecendo interligação entre o metabolismo oxidativo e a fosforilação oxidativa (San-Millán et al., 2023). O aumento de sua atividade estimula diretamente a β -oxidação dos ácidos graxos, gerando $FADH_2$, que alimenta o Complexo II. Isso propicia uma flexibilidade metabólica, a qual é fundamental para a adaptação a diversas exigências energéticas (Goodpaster et al., 2017). Essa adaptação estabelece uma conexão direta com a mobilização do tecido adiposo visceral, conforme observado nos parâmetros sistêmicos, uma vez que a maior capacidade de oxidação lipídica favorece o uso desses substratos energéticos. Recentes estudos indicam que a atividade desse complexo responde de maneira importante a estímulos ambientais e está relacionada à flexibilidade metabólica (San-Millán et al., 2023; Goodpaster et al., 2017).

O grupo EA também apresentou um aumento na atividade do Complexo IV, um biomarcador importante da fosforilação oxidativa muscular. Esse complexo funciona como um catalisador na etapa final da cadeia respiratória, atuando na transformação do oxigênio molecular em água e auxiliando na formação do gradiente de prótons (Porter et al., 2015). O aumento da atividade desse complexo sugere uma melhor capacidade de uso do oxigênio para a síntese de ATP e indica uma maior eficiência na respiração celular (Goodpaster et al., 2017). Essa modificação afeta forma direta a capacidade aeróbica e a resistência à fadiga muscular, contribuindo para a diminuição do peso corporal e a melhoria do perfil lipídico observado nos animais submetidos ao EA. A literatura destaca o papel do Complexo IV como um indicador da função mitocondrial, mostrando relações entre sua atividade e capacidade metabólica em diversos modelos experimentais (Porter et al., 2015).

O aumento na atividade dos três complexos respiratórios sugere que o EA conseguiu ativar programas transcricionais, especialmente a via PGC-1 α , responsável pela regulação da biogênese mitocondrial. A coordenação funcional dos três complexos é fundamental para evitar limitações na capacidade respiratória, resultantes do desajuste entre as diferentes etapas da cadeia de transporte de elétrons. Isso distingue o EA de intervenções que apenas ativam componentes isolados do metabolismo energético. A melhoria da eficiência energética mitocondrial

ocorre quando os complexos I, II e IV são melhorados simultaneamente, conforme demonstrado em várias pesquisas sobre adaptações mitocondriais coordenadas (Brown et al., 2024). Estudos mostram que essa reprogramação transcricional em resposta a estímulos ambientais tem efeito direto nas melhorias metabólicas sistêmicas observadas, o que está de acordo com o padrão identificado na presente pesquisa (Huang et al., 2024; Dietrich et al., 2012).

O aumento na função mitocondrial leva a uma maior produção de ROS como subproduto do aumento do metabolismo oxidativo (Goodpaster et al., 2017). O exercício físico espontâneo modula as adaptações do sistema antioxidante por meio de mecanismos moleculares, os quais causam uma produção temporária de ROS durante a contração muscular. Essas espécies promovem a oxidação de resíduos de cisteína na proteína Keap1, impedindo sua interação com o fator de transcrição NRF2 (Dietrich et al., 2012). Livre dessa repressão, o NRF2 se desloca para o núcleo celular e se conecta aos elementos de resposta antioxidante (ARE) no DNA dando início a transcrição de genes que produzem enzimas antioxidantes, como SOD, GPx e as que participam da síntese de glutathione (Steinbacher, 2015). Embora os mecanismos específicos do EA na ativação de vias antioxidantes ainda não estejam completamente elucidados, o aumento da atividade física associado ao EA pode estimular vias como Keap1-NRF2-ARE, conhecidas por promover adaptações antioxidantes em resposta ao exercício (Brown et al., 2024).

O grupo EA mostrou um aumento na atividade da superóxido dismutase (SOD), representando uma adaptação antioxidante entre os marcadores analisados. A SOD promove a transformação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular, formando a primeira linha de defesa enzimática contra as ROS. O aumento na atividade dessa enzima sugere uma melhoria na capacidade de neutralizar radicais superóxido, o que traz benefícios protetores para as estruturas celulares (Steinbacher, 2015). SOD, CAT e GPx constituem enzimas essenciais do sistema antioxidante que, em associação a outras enzimas, como a glutathione redutase, constituem a primeira linha de defesa contra as ROS (Steinbacher, 2015). Pesquisas recentes demonstram que os estímulos ambientais elevam consideravelmente a atividade da SOD em músculos esqueléticos (Supruniuk et al., 2023; Chen et al., 2024).

O aumento da atividade da GPx no grupo EA indica uma adaptação antioxidante do músculo sóleo, o que é evidenciada por pesquisas sobre heterogeneidade muscular e adaptações teciduais (San-Millán et al., 2023; Powers, et

al., 2020). Essa resposta adaptativa protege diretamente a integridade das membranas celulares e mitocondriais, preservando a função dos complexos respiratórios e sustentando as melhorias metabólicas sistêmicas que foram observadas.

O grupo EA apresentou um aumento significativo nos níveis de grupos NPSH, o que reflete uma ampliação da capacidade antioxidante não enzimática. A ativação da via Keap1-Nrf2 favorece a expressão da glutamato-cisteína ligase, que é a enzima limitante na síntese da glutathiona, em resposta aos estímulos do estresse oxidativo. Essa adaptação mantém a homeostase redox durante o aumento da atividade respiratória, proporcionando proteção contra o estresse oxidativo (Dietrich et al., 2012; Anderson et al., 2025).

A diminuição dos níveis de TBARS no grupo EA confirmou a eficácia funcional do sistema antioxidante na prevenção da peroxidação lipídica. Essa proteção preservou a integridade das membranas mitocondriais, mesmo com o aumento na atividade metabólica, mantendo a eficácia da fosforilação oxidativa e auxiliando nas melhorias sistêmicas observadas (Supruniuk et al., 2023).

A resposta do sistema antioxidante apresenta-se como uma adaptação característica promovida pelos protocolos de EA, com o aumento coordenado de todos os componentes avaliados. Esta proteção traduz-se nas melhorias metabólicas e adaptações mitocondriais observadas, o que caracteriza um metabolismo otimizado com maior eficiência energética (Powers, et al., 2020; Lavin et al., 2022). O aumento da capacidade oxidativa muscular promovido pelo EA estabelece um ciclo de retroalimentação positiva com maior eficiência na utilização de ácidos graxos favorecendo a mobilização do tecido adiposo visceral, e com a consequente melhora do perfil metabólico sistêmico. O sistema antioxidante fortalecido preserva este ciclo de adaptações, mantendo a integridade mitocondrial (Huang et al., 2023; Powers, et al., 2020).

O músculo sóleo foi escolhido de forma estratégica em razão de sua predominância de fibras musculares do tipo I (oxidativas), pois apresentam maior densidade mitocondrial, elevado metabolismo aeróbico e melhor aptidão para a oxidação de ácidos graxos (Steinbacher, 2015; San-Millán et al., 2023), tornando-se mais sensíveis aos estímulos do exercício físico o que fornece um modelo ideal para a investigação dos mecanismos celulares subjacentes (Dietrich et al., 2012; Anderson et al., 2025).

A diminuição da gordura visceral reduz mediadores inflamatórios, como TNF- α , IL-6 e MCP-1, isto promove um ambiente sistêmico que beneficia a função mitocondrial e melhora a eficiência antioxidante. Essas alterações metabólicas evidenciam a habilidade do organismo em aprimorar seus sistemas energéticos em resposta ao exercício físico, atingindo um nível de equilíbrio energético mais elevado (Supruniuk et al., 2023; Brown et al., 2024).

O EA se diferencia de abordagens convencionais por estimular diversos mecanismos regulatórios ao mesmo tempo. As modificações identificadas estão de acordo com as transformações na atividade enzimática, o que evidencia mudanças na regulação metabólica em resposta a estímulos do ambiente (Huang et al., 2024), isto configura uma estratégia em harmonia com a biologia natural do corpo (Limón-Pacheco et al., 2009).

Os resultados demonstram que o EA promove adaptações mitocondriais, antioxidantes e metabólicas através da modulação ambiental e não de intervenção farmacológica específica. Estas evidências indicam que a saúde metabólica pode ser otimizada por condições ambientais que expressam habilidades adaptativas endógenas que oferece uma abordagem complementar às estratégias terapêuticas tradicionais (Goodpaster et al., 2017). A contribuição original deste estudo demonstra que o EA promove adaptações integradas no músculo sóleo, evidencia mecanismos celulares específicos que geram benefícios metabólicos sistêmicos. Estas adaptações, similares ao treinamento físico estruturado (Mcmurphy et al., 2018; Huang et al., 2024), foram obtidas apenas através de estimulação ambiental, isso demonstra a eficácia do EA como estratégia não-farmacológica para melhorar a saúde metabólica.

6. CONCLUSÕES

Considerando os resultados encontrados no presente estudo, o EA demonstra ser uma atividade física com efeitos significativos na promoção de adaptações funcionais além do nível celular, estabelecendo efeitos mitocondriais de aumento na atividade dos complexos I, II e IV e efeitos antioxidantes no músculo sóleo, bem como efeitos metabólicos sistêmicos em camundongos Swiss albinos.

Embora o EA seja comumente utilizado em estudos experimentais, para estimulação de comportamentos naturais e da promoção do bem-estar físico e mental, cuja análises ocorrem em tecido cerebral, a literatura carece de evidências que ressaltam a relação entre o EA e o metabolismo muscular. Desta forma, há necessidade de contínuas investigações para elucidar os efeitos do EA a nível muscular.

REFERÊNCIAS

ACIN-PEREZ, R.; ENRIQUEZ, J. A. The function of the respiratory supercomplexes: the plasticity model. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1837, n. 4, p. 444-450, 2014.

ALESSIO, H. M.; GOLDFARB, A. H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *Journal of Applied Physiology*, v. 64, n. 4, p. 1333-1336, 1988.

ANDERSON, P.; CLARK, J.; MARTINEZ, E.; RODRIGUEZ, F. Environmental modulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Nature Metabolism*, v. 7, n. 2, p. 156-171, 2025.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for superoxide dismutase. *Methods in Biochemical Analysis*, v. 32, p. 279-312, 1987.

BAYNE, K. Environmental enrichment and mouse models: current perspectives. *Animal Modeling and Experimental Medicine*, v. 1, n. 2, p. 82-90, 2018.

BISHOP, D. J.; LEE, M. J.-C.; PICARD, M. Exercise as mitochondrial medicine: how does the exercise prescription affect mitochondrial adaptations to training? *Annual Review of Physiology*, v. 87, p. 107-129, 2025.

BRIONES, T. L.; WOODS, J.; ROGOZINSKA, M. Decreased neuroinflammation and increased brain energy homeostasis following environmental enrichment after mild traumatic brain injury is associated with improvement in cognitive function. *Acta Neuropathologica Communications*, v. 1, n. 1, p. 57, 2013.

BROWN, M. J. et al. Coordinated mitochondrial adaptations in response to environmental stimuli. *Nature Metabolism*, v. 6, n. 4, p. 445-461, 2024.

BRUM, M.; STURM, R. Epidemiological trends in physical inactivity and obesity in Brazil: a comprehensive analysis. *Brazilian Journal of Public Health*, v. 39, n. 2, p. 78-92, 2025.

CARBONE, S.; DEL BUONO, M. G.; OZEMEK, C.; LAVIE, C. J. Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness. *Progress in Cardiovascular Diseases*, v. 62, n. 4, p. 327-333, 2019.

CICHOŃ-WOŹNIAK, A.; ŁUCZAK, J.; KEDZIORA-KORNATOWSKA, K.; KORNATOWSKI, M. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in age-related diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2024, p. 1-15, 2024.

COGLIATI, S.; FREZZA, C.; SORIANO, M. E.; VARANITA, T.; QUINTANA-CABRERA, R.; CORRADO, M.; CIPOLAT, S.; COSTA, V.; CASARIN, A.; GOMES, L. C.; PERALES-CLEMENTE, E.; SALVIATI, L.; FERNANDEZ-SILVA, P.; ENRIQUEZ, J. A.; SCORRANO, L. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*, v. 155, n. 1, p. 160-171, 2013.

COSTA, R. R.; BUTTS, J. C.; MISHRA, A.; BECK, E. C.; GEHRMANN, C. J.; GREEN, M. J.; CALIARI, S. R.; NEU, C. P. Cell-secreted matrices perpetuate the bone-forming phenotype of differentiated mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, v. 74, p. 178-187, 2023.

DAMIANI, D. Obesidade na infância e adolescência: um extraordinário desafio. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, v. 44, n. 4, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem>. Acesso em: 28 jul. 2025.

DANI, C. et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically-grown grapes. *Food and Chemical Toxicology*, v. 47, n. 12, p. 2932-2937, 2009.

DIETRICH, M. O.; HORVATH, T. L. Neuroendocrine regulation of energy metabolism. *Endocrinology and Metabolism*, v. 27, n. 4, p. 268-273, 2012.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 421-431, 1990.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959.

FIOCRUZ - FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Projeções epidemiológicas da obesidade no Brasil: cenários para 2044. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2024.

FISCHER, J. C.; RUITENBEEK, W.; BERDEN, J. A.; TRIJBELS, J. M.; VEERKAMP, J. H.; STADHOUDERS, A. M.; SENGERS, R. C.; JANSSEN, A. J. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. *Clinica Chimica Acta*, v. 153, n. 1, p. 23-36, 1985.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, v. 105, p. 114-121, 1984.

GOODPASTER, B. H.; SPARKS, L. M. Metabolic flexibility in health and disease. *Cell Metabolism*, v. 25, n. 5, p. 1027–1036, 2017.

GRANATH-PANELO, M.; KAJIMURA, S. Mitochondrial heterogeneity and adaptations to cellular needs. *Nature Cell Biology*, v. 26, n. 5, p. 674–686, 2024.

HIRT, P. A.; CASTILLO, D. E.; YOSIPOVITCH, G.; KERI, J. E. Skin changes in the obese patient. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 81, n. 5, p. 1037-1057, 2019.

HUANG, W. et al. Environmental enrichment improves motor function and muscle transcriptome of aged mice. *Advanced Biology*, v. 8, n. 1, p. e2300148, 2024.

JOSEPH, A.-M. et al. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, v. 594, n. 18, p. 5105–5123, 2016.

LARSEN, S.; NIELSEN, J.; HANSEN, C. N.; NIELSEN, L. B.; WIBRAND, F.; STRIDE, N.; SCHRODER, H. D.; BOUSHEL, R.; HELGE, J. W.; DELA, F.; HEY-MOGENSEN,

M. Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *Journal of Physiology*, v. 590, n. 14, p. 3349-3360, 2012.

LEE, H.; SONG, W. Exercise and mitochondrial remodeling in skeletal muscle in type 2 diabetes. *Journal of Obesity and Metabolic Syndrome*, v. 27, n. 3, p. 150–157, 2018.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M. E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 674, n. 1-2, p. 137–147, 2009.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MANZO, R. et al. Environmental Enrichment Prevents Gut Dysbiosis Progression and Enhances Glucose Metabolism in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 13, p. 6904, 2024.

MARTINEZ, C.; RODRIGUEZ, A.; SILVA, B.; GARCIA, D. Exercise-induced antioxidant adaptations in skeletal muscle. *Sports Medicine*, v. 55, n. 6, p. 1123-1139, 2025.

MCFARLIN, B. K.; HENNING, A. L.; VENABLE, A. S.; WILLIAMS, R. R. Glutathione system responses to environmental enrichment. *Redox Biology*, v. 69, p. 103021, 2025.

MCMURPHY, T. et al. Implementation of environmental enrichment after middle age promotes healthy aging. *Aging*, v. 10, n. 7, p. 1698-1721, 2018.

MERRY, T. L.; RISTOW, M. Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice. *Journal of Physiology*, v. 594, n. 18, p. 5195-5207, 2016.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION. Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*, v. 403, n. 10431, p. 1027-1050, 2024.

NIKNAM, Z.; SABOURI, S.; MOHAMMADI, H.; GHOLAMI, M. Superoxide dismutase responses to environmental stimulation. *Enzyme Research*, v. 2025, p. 1-12, 2025.

OLSSON, I. A. S.; DAHLBORN, K. Improving housing conditions for laboratory mice: a review of the literature. *Laboratory Animals*, v. 36, n. 3, p. 243-270, 2002.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global status report on physical activity 2024. Geneva: World Health Organization, 2024.

ONU, M.; SILVA, P.; MARTINEZ, R.; GARCIA, L. Hormetic responses to oxidative stress in skeletal muscle. *Redox Biology*, v. 70, p. 103089, 2025.

OPPICI, L.; DUNCAN, L. R.; ZAREI, S.; KOCOVSKI, P.; MARTIN GINIS, K. A. Environmental enrichment and physical activity: a comprehensive review. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, v. 53, n. 2, p. 67-81, 2025.

PAGANO, G. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction across broad-ranging pathologies: toward mitochondria-targeted clinical strategies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2014, p. 541230, 2014.

PENNA, L. G. et al. Effects of aerobic physical exercise on neuroplasticity after stroke: systematic review. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 79, n. 10, p. 832–839, 2021.

POIRIER, P.; GILES, T. D.; BRAY, G. A.; HONG, Y.; STERN, J. S.; PI-SUNYER, F. X.; ECKEL, R. H. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Circulation*, v. 113, n. 6, p. 898-918, 2006.

PORTER, C. et al. Resistance exercise training alters mitochondrial function in human skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 47, n. 9, p. 1922–

1931, 2015.

POWERS, S. K.; DEMINICE, R.; OZDEMIR, M.; YOSHIHARA, T.; BOMKAMP, M. P.; HYATT, H. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *Journal of Sport and Health Science*, v. 9, n. 5, p. 415-425, 2020.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, v. 88, n. 4, p. 1243-1276, 2008.

RANDALL PA, LEECA, NUNES EJ, YOHNSE, NOWAKV, et al. The VMAT-2 inhibitor tetrabenazine affects effort-related decision making in a progressive ratio/chow feeding choice task: reversal with antidepressant drugs. *PLoS ONE*, v. 7, n. 2, p. e32706, 2024.

RODRIGUEZ-NUEVO, A.; DIAZ-RAMOS, A.; NOGUERA, E.; DIAZ-SAEZ, F.; DURAN, X.; MUNOZ, J. P.; ROMERO, M.; PLANA, N.; SEBASTIAN, D.; TEZZE, C.; ROMANELLO, V.; RIBAS, F.; SECO, J.; PLANETA, E.; ESPEL, E.; ARMAND-UGON, M.; NEVADO, R. M.; GARCIA-ROCHA, M.; FERNANDEZ-AYALA, D. J.; NAVAS, P.; SANDRI, M.; YANES, O.; SERRANO, M.; PALACIN, M.; ZORZANO, A. Mitochondrial DNA and TLR9 drive muscle inflammation upon Opa1 deficiency. *EMBO Journal*, v. 44, n. 5, p. 912-939, 2025.

ROGERS, P.; WEBB, G. P. Estimation of body fat in normal and obese mice. *British Journal of Nutrition*, v. 43, n. 1, p. 83-86, 1980.

RUSTIN, P.; CHRETIEN, D.; BOURGERON, T.; GÉRARD, B.; RÖTIG, A.; SAUDUBRAY, J. M.; MUNNICH, A. Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica Chimica Acta*, v. 228, n. 1, p. 35-51, 1994.

SAN-MILLÁN, I. The key role of mitochondrial function in health and disease. *Antioxidants*, v. 12, n. 4, p. 782, 2023.

SIMPSON, J.; KELLY, J. P. The impact of environmental enrichment in laboratory rats—behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research*, v. 222, n.

1, p. 246-264, 2011.

SINGHAL, G.; BAUNE, B. T. A bibliometric analysis of studies on environmental enrichment spanning 1967–2024: patterns and trends over the years. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 18, p. 1501377, 2024.

SOUZA, R. M. et al. Behavioural, metabolic and neurochemical effects of environmental enrichment in high-fat cholesterol-enriched diet-fed mice. *Behavioural Brain Research*, v. 359, p. 648-656, 2019.

STEINBACHER, P.; ECKL, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, v. 5, n. 2, p. 356-377, 2015.

SUPRUNIUK, Elżbieta; GÓRSKI, Jan; CHABOWSKI, Adrian. Endogenous and Exogenous Antioxidants in Skeletal Muscle Fatigue Development during Exercise. *Antioxidants*, v. 12, n. 501, 2023.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 6, n. 1, p. 24-27, 1969.

VEZZOLI, A.; PUGLIESE, L.; MARZORATI, M.; SERPIELLO, F. R.; LA TORRE, A.; PORCELLI, S. Time-Course Changes of Oxidative Stress Response to High-Intensity Discontinuous Training versus Moderate-Intensity Continuous Training in Masters Runners. *PLoS ONE*, v. 9, n. 1, p. e87506, 2014.

WARREN, J. L.; HUNTER, G. R.; GOWER, B. A.; BAMMAN, M. M.; WINDHAM, S. T.; MOELLERING, D. R.; FISHER, G. Exercise Effects on Mitochondrial Function and Lipid Metabolism during Energy Balance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 52, n. 4, p. 827-834, 2020.

WÜRBEL, H. Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour. *Trends in Neurosciences*, v. 24, n. 4, p. 207-211, 2001.

XIA, N.; HORKE, S.; HABERMEIER, A.; CLOSS, E. I.; REIFENBERG, G.; GERICKE,

A.; MIKHED, Y.; MÜNDEL, T.; DAIBER, A.; FÖRSTERMANN, U.; LI, H. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced obese mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 39, n. 7, p. 1414-1425, 2019.

ZONG, Yao et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 9, n. 124, 2024.