

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO – UNINOVE

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação (PPGCR)

CAROLINE LÉLIS DE ARAUJO

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO TECIDO MUSCULAR DA PROLE DE
ANIMAIS EXPOSTOS À POLUIÇÃO DO AR**

São Paulo

2026

CAROLINE LÉLIS DE ARAUJO

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO TECIDO MUSCULAR DA PROLE DE
ANIMAIS EXPOSTOS À POLUIÇÃO DO AR**

**Dissertação apresentada à Universidade Nove de
Julho como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Ciências da Reabilitação, na etapa de
defesa.**

Orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis.

São Paulo

2026

Araujo, Caroline Lélis de.

Efeitos do treinamento físico no tecido muscular da prole de animais expostos à poluição do ar. / Caroline Lélis de Araujo. 2026.

65 f.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2026.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Kátia de Angelis.

São Paulo, 10 de abril de 2026.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): CAROLINE LÉLIS DE ARAÚJO

Título da Tese: "EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO TECIDO MUSCULAR DA PROLE DE ANIMAIS EXPOSTOS À POLUIÇÃO DO AR"

Presidente: PROFA. DRA. KÁTIA DE ANGELIS



Membro: PROFA. DRA. NATHALIA BERNARDES



Membro: PROFA. DRA. RAQUEL AGNELLI MESQUITA FERRARI



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, que sempre foi meu alicerce e meu porto seguro, oferecendo amor, apoio incondicional e confiança em cada passo desta jornada. Aos meus pais, que com seu exemplo de dedicação, coragem e perseverança me ensinaram a importância de lutar pelos sonhos, agradeço por cada palavra de encorajamento, cada gesto de cuidado e cada sacrifício feito para que eu pudesse crescer e alcançar meus objetivos. Aos meus irmãos, pela companhia constante, pela amizade verdadeira e pelo incentivo nas horas de dúvida, que tornaram os momentos difíceis mais leves e as conquistas ainda mais significativas.

Dedico também aos meus sobrinhos, cuja alegria, curiosidade e amor inocente sempre me renovaram e me deram forças para continuar, mesmo nos dias mais desafiadores. Cada sorriso, cada abraço e cada demonstração de carinho deles serviram como lembrança do que realmente importa e da importância de perseverar.

Dedico ainda aos meus amigos, que estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e nos desafios, oferecendo palavras de incentivo, apoio sincero e risadas que renovaram minhas energias. Vocês tornaram esta caminhada mais leve, divertida e significativa. Cada lembrança compartilhada, cada gesto de carinho, ficará para sempre gravada nesta conquista, tornando-a ainda mais especial.

Dedico este trabalho com carinho e saudade àqueles que já não estão presentes fisicamente, mas cujo amor, ensinamentos e lembranças permanecem vivos em meu coração. Àqueles que me inspiraram com sua força, carinho e dedicação, e que, mesmo ausentes, continuam me guiando em cada escolha e me motivando a seguir adiante. Que esta conquista seja também uma homenagem à memória de vocês, que sempre fizeram parte da minha história e do meu crescimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora, Profa. Dra. Kátia De Angelis, pela orientação incansável, pelo conhecimento compartilhado e pela paciência durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Suas críticas construtivas e ensinamentos foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos colegas e amigos dos laboratórios de Fisiologia do Exercício da UNIFESP e de Fisiologia Translacional da UNINOVE, pelo apoio, colaboração e troca constante de experiências, que enriqueceram minha formação e tornaram a pesquisa mais leve e motivadora.

Aos professores, pesquisadores e demais profissionais que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação, agradeço pelas oportunidades de aprendizado e pelo compartilhamento de conhecimento.

Por fim, a todos que de alguma forma estiveram presentes nesta trajetória, oferecendo incentivo, amizade ou apoio, deixo meu sincero agradecimento. Cada contribuição, por menor que pareça, fez diferença na concretização deste trabalho.

Ao CNPq, processo 130269/2025-5, pelo financiamento suporte essencial à realização deste estudo, possibilitando que o trabalho fosse conduzido com rigor e qualidade.

Resumo

A poluição do ar é um relevante fator de risco ambiental, associada a doenças respiratórias e cardiovasculares e a prejuízos no desenvolvimento fetal. Evidências sugerem que a exposição intrauterina a poluentes pode programar alterações metabólicas e inflamatórias na prole; contudo, seus efeitos sobre o músculo esquelético e possíveis diferenças entre sexos ainda são pouco elucidados. O treinamento físico surge como estratégia não farmacológica capaz de atenuar esses efeitos, por meio da modulação inflamatória, do estresse oxidativo e de adaptações musculares benéficas. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do treinamento físico sobre o tecido muscular da prole de ambos os sexos exposta à poluição do ar durante a gestação. Ratas Wistar foram expostas ao material particulado fino (MP_{2,5}; 600 µg/m³) do 5º dia pós-cópula até o nascimento da prole. Após o desmame, os filhotes foram distribuídos em seis grupos experimentais: macho controle (MC), fêmea controle (FC), macho exposto (ME), fêmea exposta (FE), macho exposto treinado (MET) e fêmea exposta treinada (FET) (n = 6–8 animais/sexo/grupo). Os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento aeróbio moderado em esteira (5x/semana, 8 semanas). Ao final do protocolo, foi realizado teste de esforço máximo e o músculo gastrocnêmio foi coletado para análise da massa muscular, mediadores inflamatórios e marcadores de estresse oxidativo. O treinamento físico aumentou a capacidade física e o desempenho no teste de esforço máximo nos grupos MET e FET. A exposição materna à MP_{2,5}, apesar de não alterar o peso muscular, induziu aumento dos níveis de IL-6 em machos e reduziu IL-10 em machos e fêmeas. Os grupos treinados de ambos os sexos apresentaram redução da razão TNF-α/IL-10 muscular. A atividade da SOD muscular foi reduzida e o H₂O₂ aumentado no grupo ME em relação ao grupo MC, o que não foi observado no grupo MET. Houve redução de FRAP no grupo FE em relação ao grupo FC, o que não foi observado nos grupos treinados. O treinamento físico reduziu a atividade da NADPH oxidase e a lipoperoxidação no tecido muscular de machos. Não houve diferenças para GPx, carbonilas e nitrito. Em machos, a razão TNF-α/IL-10 apresentou correlações positivas com H₂O₂ (r=0,69; p=0,01), NADPH oxidase (r=0,64; p=0,04) e TBARS (r=0,70; p=0,01) e correlações negativas com a SOD (r=-0,63; p=0,02) e com o tempo de teste de esforço (r=-0,73; p=0,02). Em fêmeas, observou-se correlação positiva entre a razão TNF-α/IL-10 com a NADPH oxidase (r=0,71; p=0,03) e correlações negativas entre a razão TNF-α/IL-10 com a SOD (r=-0,70; p=0,04), a FRAP (r=-0,72; p=0,03) e o teste de esforço (r=-0,74; p=0,02). Houve correlação positiva entre o teste de esforço máximo e a massa do gastrocnêmio em machos (r = 0,64; p = 0,05) e fêmeas (r = 0,60; p = 0,05). A exposição gestacional ao MP_{2,5} promoveu alterações inflamatórias e redox precoces no músculo esquelético da prole, com maior susceptibilidade em machos e associação com pior desempenho funcional. O treinamento físico pós-natal atenuou esses efeitos e melhorou a capacidade funcional. Em conjunto, esses achados reforçam o papel do exercício físico regular como estratégia não farmacológica relevante para mitigar as repercussões da exposição intrauterina à poluição do ar sobre o músculo esquelético, com potenciais implicações na prevenção de desfechos metabólicos e funcionais ao longo da vida.

Palavras-chave: poluição do ar; treinamento físico; músculo esquelético; estresse oxidativo; inflamação.

Abstract

Air pollution is a relevant environmental risk factor associated with respiratory and cardiovascular diseases, as well as impaired fetal development. Evidence suggests that intrauterine exposure to pollutants may programme metabolic and inflammatory alterations in offspring; however, its effects on skeletal muscle and possible sex differences remain poorly understood. Physical exercise has emerged as a non-pharmacological strategy capable of attenuating these effects through modulation of inflammation, oxidative stress, and beneficial muscular adaptations. This study aimed to investigate the effects of exercise training on skeletal muscle tissue in male and female offspring exposed to air pollution during gestation. Female Wistar rats were exposed to fine particulate matter (PM_{2.5}; 600 µg/m³) from the 5th day post-conception until delivery. After weaning, offspring were allocated into six experimental groups: male control (MC), female control (FC), exposed male (ME), exposed female (FE), exposed trained male (MET), and exposed trained female (FET) (n = 6–8 animals/sex/group). Trained groups underwent a moderate aerobic treadmill training protocol (5x/wk, 8 wks). At the end of the protocol, a maximal exercise test was performed, and the gastrocnemius muscle was collected for analysis of muscle mass, inflammatory mediators and oxidative stress markers. Exercise training increased physical capacity and maximal exercise performance in the MET and FET groups. Maternal exposure to PM_{2.5}, despite not altering muscle mass, induced increased IL-6 levels in males and reduced IL-10 levels in both males and females. Trained groups of both sexes showed a reduction in the muscular TNF-α/IL-10 ratio. Muscular SOD activity was reduced and H₂O₂ levels increased in the ME group compared with the MC group, which was not observed in the MET group. FRAP levels were reduced in the FE group compared with the FC group, which was not observed in trained groups. Exercise training reduced NADPH oxidase activity and lipid peroxidation in male skeletal muscle. No differences were observed for GPx, protein carbonyls, or nitrite. In males, the TNF-α/IL-10 ratio showed positive correlations with H₂O₂ (r = 0.69; p = 0.01), NADPH oxidase (r = 0.64; p = 0.04), and TBARS (r = 0.70; p = 0.01), and negative correlations with SOD (r = -0.63; p = 0.02) and exercise test duration (r = -0.73; p = 0.02). In females, a positive correlation was observed between the TNF-α/IL-10 ratio and NADPH oxidase (r = 0.71; p = 0.03), and negative correlations were observed between the TNF-α/IL-10 ratio and SOD (r = -0.70; p = 0.04), FRAP (r = -0.72; p = 0.03), and exercise performance (r = -0.74; p = 0.02). Positive correlations were also observed between maximal exercise performance and gastrocnemius muscle mass in males (r = 0.64; p = 0.05) and females (r = 0.60; p = 0.05). Gestational exposure to PM_{2.5} promoted early inflammatory and redox alterations in offspring skeletal muscle, with greater susceptibility in males and association with impaired functional performance. Postnatal exercise training attenuated these effects and improved functional capacity. Collectively, these findings reinforce the role of regular physical exercise as a relevant non-pharmacological strategy to mitigate the repercussions of intrauterine exposure to air pollution on skeletal muscle, with potential implications for preventing metabolic and functional outcomes throughout life.

Keywords: Air pollution, Gestational exposure, Skeletal muscle, Physical exercise, Oxidative stress.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. POLUIÇÃO DO AR: MATERIAL PARTICULADO E RISCO À SAÚDE	13
1.2. EXPOSIÇÃO À POLUIÇÃO DO AR, CAPACIDADE FÍSICA E IMPACTO NO TECIDO MUSCULAR	15
1.3. EFEITOS DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL AO MATERIAL PARTICULADO 2,5: IMPACTO NO TECIDO MUSCULAR DA PROLE	18
1.4. EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NAS DISFUNÇÕES INDUZIDAS PELA POLUIÇÃO	19
2. OBJETIVO	24
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO	25
3.2. DESENHO EXPERIMENTAL	25
3.3. EXPOSIÇÃO DE MP_{2,5} EM MODELO ANIMAL	26
3.4. MEDIDAS METABÓLICAS	27
3.5. TESTE DE ESFORÇO E TREINAMENTO FÍSICO	27
3.6. PRESERVAÇÃO DO TECIDO MUSCULAR	27
3.7. MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	27
3.7.1. PREPARAÇÃO DO TECIDO PARA ANÁLISE DO ELISA	28
3.7.2. ELISA	28
3.8. MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO	28
3.8.1. PREPARAÇÃO DOS TECIDOS PARA ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO	29
3.8.2. SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	29
3.8.3. DOSAGEM DE PROTEÍNAS CARBONILADAS (DANO A PROTEÍNAS)	29
3.8.4. NADPH OXIDASE	30
3.8.5. PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	30
3.8.6. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE NÃO ENZIMÁTICA (FRAP)	30
3.8.7. GLUTATIONA PEROXIDASE (GPx)	31
3.8.8. DOSAGEM DE SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)	31
3.8.9. NITRITOS	32
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	32

4.	RESULTADOS	33
4.1.	PESO CORPORAL	33
4.2.	PESO DO GASTROCNÊMIO	33
4.3.	TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO	33
4.4.	MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	34
4.5.	MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E NITROSATIVO	36
4.6.	ANÁLISES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON	40
5.	DISCUSSÃO	43
6.	CONCLUSÃO	51
7.	REFERÊNCIAS	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teste de esforço máximo em esteira nos grupos estudados.....	34
Figura 2. Razão TNF- α /IL-10 em tecido muscular nos grupos estudados.....	35
Figura 3. Capacidade antioxidante não enzimática (FRAP) em tecido muscular nos grupos estudados.....	38
Figura 4. Peróxido de hidrogênio em tecido muscular nos grupos estudados.	38
Figura 5. Atividade da NADPH oxidase em tecido muscular nos grupos estudados.....	39
Figura 6. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em tecido muscular nos grupos estudados.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal nos grupos estudados.....	33
Tabela 2. Peso do músculo gastrocnêmio nos grupos estudados.....	33
Tabela 3. Teste de esforço máximo (TM) em esteira nos grupos estudados.....	34
Tabela 4. Avaliação dos mediadores inflamatórios em tecido muscular nos grupos estudados.....	35
Tabela 5. Avaliação dos mediadores de estresse oxidativo em tecido muscular nos grupos estudados.....	37
Tabela 6. Estresse nitrosativo em tecido muscular nos grupos estudados.....	37
Tabela 7. Correlações de Pearson nos grupos expostos entre a razão TNF- α /IL-10 e marcadores de estresse oxidativo em tecido muscular.....	41
Tabela 8. Correlações de Pearson nos grupos expostos entre o teste de esforço, massa do gastrocnêmio, lipoperoxidação e razão TNF- α /IL-10 em tecido muscular.....	42

Lista de Abreviaturas

ANOVA – Análise de Variância

AQG – Air Quality Guidelines

ATP – Adenosina Trifosfato

CAT – Catalase

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CHARLS – China Health and Retirement Longitudinal Study

DNPH – 2,4-dinitrofenil hidrazina

DP – Desvio Padrão

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ERO(s) – Espécies Reativas de Oxigênio

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

FC – Fêmeas Controle

FE – Fêmeas Expostas

FET – Fêmeas Expostas Treinadas

FMUSP – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

FoxO – Forkhead box O (fatores de transcrição)

FRAP – Ferric Reducing Ability of Plasma (Capacidade Antioxidante Total)

GPx – Glutathione Peroxidase

GSH – Glutathione Reduzida

GSSG – Glutathione Oxidada

HAPC – Harvard Ambient Particle Concentrator

HCl – Ácido Clorídrico

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio

IACUC – Institutional Animal Care and Use Committee

IGF-1 – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1

IL-1 β – Interleucina 1 beta

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

KCl – Cloreto de Potássio

MC – Machos Controle
ME – Machos Expostos
MET – Machos Expostos Treinados
MP – Material Particulado
MP₁₀ – Material Particulado (diâmetro $\leq 10 \mu\text{m}$)
MP_{2,5} – Material Particulado fino (diâmetro $\leq 2,5 \mu\text{m}$)
mTOR – Mammalian Target of Rapamycin
NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (forma reduzida)
NF- κ B – Fator Nuclear Kappa B
NO – Óxido Nítrico
NO₂ – Dióxido de Nitrogênio
NO_x – Óxidos de Nitrogênio
OMS – Organização Mundial da Saúde
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde
PI3K – Fosfatidilinositol 3-quinase
PMSF – Fluoreto de fenilmetilsulfonila
PRS – Peroxidase de Rabanete
SOD – Superóxido Dismutase
SWAN – Study of Women's Health Across the Nation
TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TCA – Ácido Tricloroacético
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa
TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazina

1. Introdução

1.1. Poluição do ar: material particulado e risco à saúde

A poluição do ar configura-se como uma das principais ameaças ambientais à saúde pública global, com repercussões em diversos sistemas do organismo. Segundo a Organização Mundial da Saúde, aproximadamente sete milhões de mortes prematuras ocorrem anualmente em decorrência da exposição a poluentes atmosféricos, afetando indivíduos de diferentes faixas etárias e regiões geográficas ⁽¹⁾.

O relatório Global Burden of Disease ⁽²⁾ identificou a poluição atmosférica como o quarto principal fator de risco de mortalidade global, atrás apenas da hipertensão arterial, do tabagismo e de hábitos alimentares inadequados. De forma semelhante, a European Environment Agency ⁽³⁾ estimou que, apenas na União Europeia, a exposição ao material particulado fino (MP_{2,5}) esteve associada a mais de 300 mil mortes anuais, reforçando a gravidade do problema em países industrializados.

No Brasil, a poluição atmosférica representa um importante fator de risco para doenças e mortes prematuras. Estimativas da OPAS indicam que aproximadamente 51 mil mortes anuais estão relacionadas à exposição a poluentes, principalmente por causas cardiovasculares e respiratórias. Esse cenário, contudo, apresenta particularidades regionais: em Minas Gerais, atividades de mineração e queima de combustíveis fósseis são fontes significativas de emissão ⁽⁴⁾, no Rio de Janeiro, predominam o tráfego veicular intenso e as atividades industriais ⁽⁵⁾, já na Região Sul, concentrações de MP_{2,5} acima dos limites recomendados pela OMS foram registradas em áreas de intensa atividade termelétrica e portuária, estando associadas ao aumento de internações por doenças respiratórias ⁽⁶⁾.

Os poluentes atmosféricos são provenientes, sobretudo, da queima de combustíveis fósseis, da geração de energia, de sistemas de aquecimento e de processos de incineração agrícola e industrial. Além disso, cerca de 80% da população mundial encontra-se exposta a níveis de poluição superiores aos limites estabelecidos pelas Diretrizes de Qualidade do Ar (Air Quality Guidelines – AQG) da Organização Mundial da Saúde (OMS), que definem concentrações seguras de material particulado (MP), especialmente o MP_{2,5} ⁽¹⁾.

O material particulado consiste em uma mistura complexa de partículas sólidas e líquidas suspensas no ar, com ampla variação em tamanho e composição química. Entre seus principais constituintes estão nitratos, sulfatos, carbono elementar e orgânico, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, além de componentes biológicos, como endotoxinas e fragmentos celulares, e metais pesados, incluindo ferro, cobre, níquel, zinco e vanádio ⁽⁷⁾. A composição do MP pode variar significativamente de acordo com a fonte emissora e as características ambientais locais.

Historicamente, a regulamentação do material particulado baseava-se principalmente no tamanho e na massa das partículas, com foco inicial no MP₁₀, que possui diâmetro aerodinâmico de até 10 µm e capacidade de atingir a árvore traqueobrônquica. Posteriormente, em 1997, os padrões de qualidade do ar passaram a incluir o MP_{2,5} (diâmetro aerodinâmico ≤ 2,5 µm), permitindo uma melhor compreensão da fração de partículas capazes de penetrar profundamente nas vias aéreas inferiores e alcançar os alvéolos. Evidências científicas indicam que o MP_{2,5} é particularmente nocivo à saúde, uma vez que seu reduzido tamanho favorece a deposição pulmonar e a indução de respostas biológicas adversas, incluindo inflamação e estresse oxidativo ⁽⁸⁾.

Na cidade de São Paulo, a maior metrópole do país, o quadro é ainda mais crítico. Dados da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo mostram que os níveis de material particulado fino (MP_{2,5}) ultrapassaram os valores recomendados pela OMS em mais de 60% dos dias de 2022, evidenciando a magnitude do problema ⁽⁹⁾. Um estudo nacional revelou que, para cada aumento de 10 µg/m³ na concentração média anual de MP_{2,5}, o risco relativo de morte por doenças respiratórias e cardiovasculares aumentou em 12% e 17%, respectivamente, com uma redução média de 1,09 anos na expectativa de vida ⁽¹⁰⁾.

Embora os efeitos respiratórios e cardiovasculares da poluição do ar estejam bem documentados, evidências recentes indicam que o tecido muscular esquelético também pode ser comprometido, ampliando a relevância de investigar o impacto da poluição sobre a saúde global, visto que esse tecido exerce papel central na regulação metabólica, na capacidade funcional e, consequentemente, na qualidade de vida e na morbimortalidade ⁽¹¹⁾.

1.2. Exposição à poluição do ar, capacidade física e impacto no tecido muscular

Além dos efeitos clássicos sobre os sistemas respiratório e cardiovascular, estudos demonstram que a exposição prolongada ao $MP_{2,5}$ contribui para inflamação sistêmica, atrofia e redução da capacidade regenerativa do músculo esquelético ⁽¹²⁾. Evidências recentes sugerem que a poluição atmosférica reduz a capacidade física em parte por afetar diretamente o músculo esquelético, órgão fundamental para a geração de força e para o desempenho em atividades de resistência. A literatura recente reforça esse cenário ao demonstrar que a poluição atmosférica exerce impactos diretos e progressivos sobre a saúde muscular, estando associada a alterações estruturais, funcionais e metabólicas do músculo esquelético ^(12, 13).

Em indivíduos idosos de Taipei acompanhados por cinco anos, níveis mais elevados de $MP_{2,5}$ foram associados a um declínio acelerado da massa muscular ($\sim 0,14$ kg/ano) e da força de preensão manual ($\sim 0,16$ kg/ano), além de aumento concomitante da gordura corporal ⁽¹⁴⁾. De forma semelhante, análises longitudinais da coorte chinesa CHARLS demonstraram que cada incremento de $10 \mu g/m^3$ em $MP_{2,5}$ se associou à piora na velocidade de marcha, no equilíbrio e no teste de levantamentos de cadeira, medidas que refletem não apenas condicionamento aeróbio, mas também força e resistência muscular ⁽¹⁵⁾. O estudo longitudinal sueco SNAC-K evidenciou que a exposição crônica a poluentes — especialmente material particulado fino e grosso ($MP_{2,5}$ e MP_{10}) e óxidos de nitrogênio (NO_x) — está associada a um declínio acelerado da massa muscular estimada, redução da força muscular avaliada por handgrip e chair-stand, bem como piora do desempenho físico ao longo do envelhecimento, indicando maior risco de sarcopenia em indivíduos continuamente expostos ⁽¹³⁾.

Um estudo longitudinal realizado na China, com 6.585 indivíduos de meia-idade e idosos, demonstrou aumento de até 9% no risco de sarcopenia em função da exposição a múltiplos poluentes ⁽¹⁶⁾. De forma complementar, estudos realizados em Taiwan indicam que a exposição prolongada ao $MP_{2,5}$ está associada à redução da massa muscular esquelética e ao aumento da gordura corporal em idosos, evidenciando o impacto da poluição atmosférica sobre a saúde muscular ⁽¹⁴⁾. Além disso, estudos populacionais de larga escala reforçam esse elo entre poluição, força muscular e capacidade funcional ⁽¹⁵⁾.

No estudo francês CONSTANCES, com mais de 50 mil participantes, concentrações elevadas de $MP_{2,5}$, NO_2 e carbono negro foram associadas a menor força de preensão máxima — um marcador funcional robusto da integridade muscular — com efeitos particularmente acentuados em homens idosos e em indivíduos com doenças crônicas ⁽¹⁷⁾.

Esses achados em conjunto indicam que o comprometimento da capacidade física em ambientes poluídos não é apenas consequência de limitações respiratórias ou cardiovasculares, mas decorre também de efeitos adversos diretos sobre a musculatura periférica. Vale destacar que modelos experimentais em animais ajudam a elucidar os mecanismos subjacentes a esses prejuízos. De fato, evidências demonstram que os poluentes atmosféricos podem induzir dano oxidativo e inflamatório direto no tecido muscular, afetando tanto a capacidade de geração de energia quanto a eficiência contrátil das fibras. Em roedores expostos cronicamente ao $MP_{2,5}$, observa-se redução do tempo de exaustão em teste de esteira e menor tolerância ao exercício, acompanhadas de marcadores elevados de estresse oxidativo, inflamação e disfunção mitocondrial no músculo esquelético ⁽¹⁸⁾. A exposição à poluição do ar também induz prejuízos diretos ao tecido muscular, incluindo desorganização das fibras, redução da área de secção transversal e comprometimento da função contrátil, culminando em menor desempenho físico ⁽¹³⁾. Em conjunto, esses resultados sustentam a hipótese de que a perda de capacidade física associada à poluição do ar é mediada, em parte substancial, pelo comprometimento estrutural e funcional do músculo esquelético, favorecendo o surgimento de sarcopenia e colaborando para a redução progressiva do desempenho físico ao longo da vida ⁽¹⁶⁾.

Neste contexto, vale destacar que o músculo gastrocnêmio tem sido amplamente estudado em modelos experimentais devido à sua composição mista de fibras oxidativas e glicolíticas, bem como ao seu papel central na locomoção ⁽¹⁹⁾. Essa heterogeneidade estrutural o torna particularmente útil para investigações envolvendo adaptações musculares a diferentes estímulos, uma vez que sua porção medial apresenta regiões profundas com predominância de fibras tipo I (oxidativas) e áreas superficiais majoritariamente constituídas por fibras tipo II (glicolíticas), permitindo análises comparativas robustas sobre atrofia, hipertrofia e plasticidade muscular ⁽²⁰⁾.

Neste sentido, estudos experimentais demonstram que a exposição a poluentes atmosféricos está associada ao aumento da peroxidação lipídica, ao infiltrado inflamatório e à redução da área de secção transversal das fibras musculares, alterações que comprometem a função contrátil e prejudicam a capacidade locomotor ^(20, 21). Considerando sua elevada plasticidade e participação direta na geração de força propulsiva durante a marcha, corrida e salto, o gastrocnêmio é um dos músculos mais adequados para investigar adaptações musculares frente a condições ambientais adversas, incluindo sedentarismo, distúrbios metabólicos e exposição ao material particulado fino ⁽²¹⁾.

Além disto, evidências experimentais indicam que machos e fêmeas podem apresentar respostas distintas à exposição ao MP_{2,5}, tanto em termos de estresse oxidativo quanto de inflamação. Kitching et al. (2025) demonstraram que fêmeas expostas ao MP_{2,5} apresentam níveis mais elevados de glutathione reduzida e maior expressão de enzimas antioxidantes em tecido cardíaco em comparação aos machos, conferindo proteção contra o estresse oxidativo ⁽²²⁾. De fato, estudos têm destacado que os efeitos do MP_{2,5} sobre o músculo esquelético apresentam importante dimensão sexo-dependente, reforçando a necessidade de considerar diferenças biológicas entre machos e fêmeas na investigação desse tema. Em modelo animal, um estudo demonstrou que a exposição precoce ao MP_{2,5} induz alterações duradouras na composição corporal e no tecido muscular, com fêmeas exibindo maior suscetibilidade, caracterizada por acúmulo de gordura, redução proporcional da massa muscular e alterações estruturais persistentes, enquanto machos apresentaram impacto significativamente menor ⁽²³⁾. Outro estudo em modelos animal mostrou que machos frequentemente apresentaram maior suscetibilidade a alterações oxidativas e inflamatórias, enquanto fêmeas apresentaram efeitos parcialmente protetores devido à influência de hormônios sexuais, como o estrogênio, que possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias ⁽²⁴⁾. Achados mostram que a exposição prolongada a partículas finas pode afetar diferentemente a saúde musculoesquelética em machos e fêmeas, reforçando a necessidade de considerar o sexo como fator modulador na avaliação do impacto da poluição do ar sobre o desenvolvimento e funcionalidade muscular ⁽²⁴⁾.

1.3. Efeitos da exposição gestacional ao material particulado 2,5: impacto no tecido muscular da prole

A exposição prolongada ao $MP_{2,5}$ tem sido associada à redução da função pulmonar e ao comprometimento do desenvolvimento físico em crianças, aspectos que podem refletir em alterações na massa e na função muscular ⁽²⁵⁾. A exposição prolongada ao $MP_{2,5}$ tem sido associada a alterações metabólicas em crianças e adolescentes, incluindo aumento do risco de síndrome metabólica, com repercussões inflamatórias e metabólicas sistêmicas que podem impactar indiretamente a composição corporal e a função muscular ⁽²⁶⁾. Além disso, evidências em adultos indicam que a exposição à poluição do ar está associada à redução da massa muscular e ao aumento do risco de sarcopenia, podendo contribuir para a antecipação do seu desenvolvimento ⁽¹³⁾. Adicionalmente, estudos indicam que a exposição prolongada ao $MP_{2,5}$ está associada à redução da função motora ampla em crianças ⁽²⁷⁾. Esses achados em conjunto sugerem que os efeitos deletérios da exposição ao $MP_{2,5}$ não se restringem a indivíduos mais velhos, reforçando a importância de investigar os impactos desse poluente antes de atingir a idade adulta.

Partículas ultrafinas, como o $MP_{2,5}$, podem atravessar a barreira placentária e já foram detectadas no tecido placentário fetal, o que evidencia efeitos diretos sobre o feto ⁽²⁷⁾. Os impactos da poluição pré-natal estendem-se a múltiplos sistemas, incluindo prejuízos respiratórios, cardiovasculares, cognitivos, resistência à insulina e disfunções metabólicas, além do tecido muscular ⁽²⁸⁾. A poluição compromete a morfologia placentária, reduzindo o transporte de oxigênio e nutrientes essenciais ao crescimento e à diferenciação das fibras musculares ⁽²⁹⁾. Neste sentido, alterações epigenéticas induzidas pela exposição ao $MP_{2,5}$, como a metilação de genes associados à biogênese mitocondrial e ao metabolismo energético, podem perpetuar disfunções musculares e favorecer fenótipos metabólicos desfavoráveis, aumentando o risco de obesidade, resistência à insulina e desenvolvimento precoce de sarcopenia ^(30, 31). Embora a exposição gestacional a $MP_{2,5}$ esteja associada a múltiplos desfechos adversos na prole incluindo baixo peso ao nascer, disfunção metabólica e comprometimento do sistema imune e respiratório, há escassez de estudos avaliando seus efeitos sobre o tecido

muscular esquelético, apesar da plausibilidade biológica dada a ativação de estresse oxidativo, inflamação e possíveis alterações endócrinas ^(1, 29).

Neste sentido há evidências experimentais que demonstram que a exposição intrauterina a partículas finas compromete o crescimento e a maturação das fibras musculares, resultando em redução da massa muscular, diminuição da área de secção transversal das fibras e prejuízos na organização estrutural do tecido ⁽³²⁾. Esses efeitos são mediados pelo aumento do estresse oxidativo e pelo desequilíbrio mitocondrial induzidos pelo MP_{2,5} durante períodos críticos do desenvolvimento, mecanismos que favorecem a ativação de vias inflamatórias e reduzem a capacidade bioenergética do músculo ⁽³³⁾. Além disso, a exposição gestacional ao MP_{2,5} pode gerar efeitos prolongados no fenótipo muscular, com impacto na maturação das fibras e nos processos metabólicos essenciais, indicando que a poluição ambiental atua como um modulador negativo da programação muscular fetal. Esses achados reforçam a importância de investigar intervenções capazes de atenuar tais danos, dado o potencial impacto funcional na vida adulta ⁽³⁴⁾.

De forma complementar, WANG et al. observaram que a exposição gestacional ao MP_{2,5} compromete o desenvolvimento muscular da prole de maneira sexo-específica, com prejuízos musculares mais pronunciados em machos, além de respostas diferenciadas ao treinamento físico combinado, o qual foi capaz de atenuar parcialmente essas alterações, embora com eficácia variável entre machos e fêmeas ⁽³²⁾. Em conjunto, esses achados reforçam que o sexo biológico modula tanto a vulnerabilidade aos efeitos deletérios da exposição ao MP_{2,5} quanto a capacidade de resposta a intervenções, indicando que a interação entre poluição ambiental, desenvolvimento muscular e estratégias de proteção não é uniforme entre machos e fêmeas.

1.4. Efeitos do treinamento físico nas disfunções induzidas pela poluição

A interação entre o treinamento físico e a poluição do ar constitui um campo emergente e relevante da pesquisa em saúde, com destaque para os efeitos sobre os sistemas respiratório e cardiovascular, e, mais recentemente sobre o músculo esquelético, tecido central na locomoção e no metabolismo energético. É importante

destacar que a prática de exercícios físicos em ambientes contaminados aumenta a ventilação pulmonar, elevando a carga inalada de poluentes ⁽³⁵⁾.

Nesse contexto, populações fisicamente ativas apresentam melhor condição cardiovascular e menor prevalência de doenças metabólicas, mesmo em áreas urbanas poluídas. Um estudo populacional longitudinal conduzido com 1.654 mulheres de meia-idade (40–60 anos), participantes do *Study of Women's Health Across the Nation* (SWAN), demonstrou que maiores níveis de exposição ao MP_{2,5} e ao NO₂ estiveram associados a pior composição corporal. Entretanto, níveis mais elevados de atividade física atenuaram esses efeitos adversos, preservando a massa magra e reduzindo o acúmulo de gordura corporal ⁽³⁶⁾. Apesar desses desafios, os benefícios do exercício físico tendem a superar os riscos em condições de exposição moderada à poluição atmosférica. Evidências provenientes de revisões narrativas envolvendo adultos fisicamente ativos em ambientes urbanos poluídos indicam que o exercício promove aumento da ventilação pulmonar e, conseqüentemente, da carga inalada de poluentes, o que pode intensificar o estresse oxidativo sistêmico ⁽³⁷⁾. Ainda assim, os efeitos positivos do treinamento físico sobre a saúde cardiovascular e metabólica mostram-se predominantes em cenários de exposição moderada, sugerindo que a prática regular de exercício mantém um perfil globalmente protetor mesmo em contextos de poluição ambiental.

Evidências experimentais indicam que a exposição ao material particulado fino (MP_{2,5}) durante o exercício físico interfere negativamente na sinalização celular responsável pela manutenção da homeostase muscular. Esse cenário é caracterizado pelo aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, maior estresse oxidativo e redução da biodisponibilidade de óxido nítrico, comprometendo a função endotelial ⁽³⁸⁾. Conseqüentemente há prejuízo da perfusão muscular e da oferta adequada de oxigênio e substratos energéticos, fatores fundamentais para os processos de adaptação, reparo e recuperação pós-exercício ⁽³⁸⁾. Adicionalmente, em um experimento conduzido com camundongos machos C57BL/6 expostos cronicamente ao MP_{2,5} durante o exercício, observou-se redução da área de secção transversal das fibras musculares, maior deposição de colágeno, elevação dos níveis de IL-6 e TNF-alfa, bem

como disfunção mitocondrial, evidenciando prejuízos estruturais e funcionais relevantes nesse tecido ⁽¹⁸⁾.

No músculo gastrocnêmio, o treinamento físico promove adaptações robustas, incluindo aumento da expressão de enzimas antioxidantes, estímulo à biogênese mitocondrial e elevação da proporção de fibras oxidativas ⁽³⁹⁾. Estudos experimentais demonstram que a exposição ao MP_{2,5} durante o exercício aumenta o estresse oxidativo e a expressão de citocinas pró-inflamatórias, além de induzir mitofagia e comprometer a função mitocondrial no músculo esquelético ⁽¹⁸⁾. Apesar desses efeitos deletérios da poluição, o exercício ainda mantém respostas adaptativas importantes, sugerindo que a atividade física contribui para a preservação da homeostase e função muscular, mesmo em contextos adversos.

A poluição por partículas finas aumentou o estresse oxidativo e ativou vias inflamatórias sistêmicas, incluindo NF-κB ⁽⁴⁰⁾. De maneira adaptativa, o exercício promoveu alterações mitocondriais, favorecendo a biogênese mitocondrial, o metabolismo oxidativo e a capacidade antioxidante no músculo esquelético ⁽⁴¹⁾. Nos animais treinados, observou-se menor dano mitocondrial, redução da geração de EROs e manutenção da função metabólica, indicando que o exercício confere resiliência ao estresse oxidativo induzido pelo MP_{2,5} ⁽³⁵⁾.

Além de aumentar a capacidade antioxidante, o treinamento físico regula a imunidade e os mecanismos de regeneração muscular. Indivíduos treinados apresentam menor ativação da via pró-inflamatória NF-κB, atenuando respostas inflamatórias exacerbadas pela poluição e promovendo um ambiente favorável à recuperação tecidual ⁽³⁹⁾. De fato, a prática regular de atividade física está associada à redução de biomarcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa, além de promover melhorias na função pulmonar e cardiovascular, o que contribui para a atenuação dos efeitos sistêmicos adversos da poluição atmosférica ^(14, 42).

Esses achados sugerem um efeito protetor do exercício físico regular frente à poluição atmosférica, particularmente relevante na prevenção da sarcopenia, condição caracterizada pela perda progressiva de massa e função muscular associada ao envelhecimento ⁽⁴³⁾. Tais efeitos benéficos são atribuídos, ao menos em parte, ao aumento da capacidade antioxidante endógena, incluindo maior atividade de enzimas

como superóxido dismutase (SOD) e catalase, além da modulação da resposta inflamatória sistêmica ⁽³⁹⁾. Ademais, o exercício promove adaptações mitocondriais e melhora da função endotelial, contribuindo para a manutenção da integridade estrutural e funcional do tecido muscular em condições adversas ⁽¹⁸⁾.

É importante destacar que evidências recentes indicam que diferenças sexuais influenciam significativamente as respostas musculares ao exercício aeróbio. De modo geral, fêmeas apresentam maior contribuição do metabolismo lipídico durante o esforço, enquanto machos tendem a maior utilização de carboidratos, refletindo diferenças na regulação metabólica e hormonal ⁽⁴⁴⁾. De fato, em modelo experimental com camundongos submetidos a teste de endurance, fêmeas apresentaram maior capacidade aeróbia (~25%), acompanhada por elevação nos níveis séricos de ácidos graxos e corpos cetônicos (~50%) ao final do esforço, além de maior expressão de genes associados à oxidação lipídica, indicando maior dependência do metabolismo lipídico em relação aos machos ⁽⁴⁵⁾. Essas diferenças refletem variações intrínsecas na organização estrutural e no perfil metabólico do músculo esquelético, incluindo a composição de fibras e a capacidade oxidativa, as quais influenciam a magnitude e a natureza das adaptações ao treinamento físico ⁽⁴⁶⁾.

O exercício físico regular configura-se como uma intervenção promissora para atenuar os efeitos deletérios da poluição sobre a musculatura esquelética. O treinamento físico modula a resposta inflamatória, potencializa os sistemas antioxidantes e otimiza a bioenergética mitocondrial, processos fundamentais para a síntese proteica e o remodelamento muscular ⁽⁴⁷⁾. Além disso, a consideração do sexo como variável biológica é essencial para a compreensão dos mecanismos de adaptação muscular, bem como dos impactos de fatores externos, como a exposição à poluição ambiental, sobre o desenvolvimento e a função do tecido muscular ⁽⁴³⁾.

Sumarizando, apesar dos avanços no entendimento dos impactos da poluição atmosférica, ainda há escassez de estudos que avaliem os efeitos da exposição gestacional ao MP_{2,5} sobre o desenvolvimento do músculo esquelético da prole. A gestação representa um período particularmente vulnerável, em que insultos ambientais podem induzir alterações epigenéticas e fisiológicas capazes de comprometer o crescimento e a função de órgãos e tecidos ao longo da vida. O músculo esquelético, que

corresponde a cerca de 40% da massa corporal total, desempenha papel central na locomoção, no metabolismo energético, na homeostase glicêmica e capacidade física. Alterações em sua estrutura ou função durante fases críticas do desenvolvimento podem comprometer a capacidade funcional ao longo da vida e predispor a doenças metabólicas e musculoesqueléticas. Nesse contexto, torna-se essencial considerar também as diferenças biológicas entre os sexos, uma vez que machos e fêmeas podem apresentar respostas distintas aos insultos ambientais e ao treinamento físico, influenciadas por fatores hormonais, metabólicos e cardiorrespiratórios. A análise comparativa entre os sexos contribui para identificar potenciais vulnerabilidades específicas e para compreender de forma mais abrangente os mecanismos envolvidos. Dessa forma, analisar o músculo esquelético da prole exposta a fatores ambientais adversos, como o MP_{2,5}, permite identificar alterações estruturais e no perfil inflamatório e de estresse oxidativo precoces, oferecendo informações essenciais sobre os mecanismos que podem levar a déficits funcionais e aumentar o risco de doenças crônicas na idade adulta. Paralelamente, o treinamento físico é amplamente reconhecido por seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. No entanto, pouco se sabe sobre sua capacidade de atenuar os efeitos deletérios da poluição quando a exposição ocorre ainda na vida intrauterina, especialmente em modelos translacionais. Investigar o potencial do treinamento físico aeróbico como estratégia de proteção representa, portanto, uma oportunidade de gerar conhecimento com implicações tanto experimentais quanto de saúde pública, avaliar se tais efeitos e as possíveis respostas ao treinamento variam entre machos e fêmeas amplia a relevância dos achados e reforça o caráter translacional da investigação. Dessa forma, este estudo justifica-se pela necessidade de elucidar os mecanismos induzidos pela exposição gestacional ao MP_{2,5} e de avaliar se o treinamento físico aeróbico pode mitigar tais efeitos sobre o músculo esquelético da prole. Ao preencher essa lacuna, pretende-se contribuir para o avanço do conhecimento sobre os impactos da poluição ambiental e para a proposição de estratégias preventivas que promovam a saúde das futuras gerações.

2. Objetivo

Investigar os efeitos do treinamento físico no tecido muscular da prole de ratas submetidas à exposição diária ao material particulado ($MP_{2,5}$) durante a gestação.

2.1. Objetivos específicos

Avaliar a prole de ambos os sexos de ratas Wistar expostas ou não à poluição do ar, submetidas ou não ao treinamento físico, em relação aos seguintes parâmetros:

- Peso corporal, muscular e capacidade física: Identificar alterações no peso corporal e do gastrocnêmio e no desempenho em teste de esforço;
- Perfil inflamatório no tecido muscular: Quantificar mediadores inflamatórios, como citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL-6) e anti-inflamatórias (IL-10) no músculo gastrocnêmio;
- Estresse oxidativo e nitrosativo no tecido muscular: analisar níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) pela atividade da NADPH oxidase e pela concentração de peróxido de hidrogênio; avaliar a capacidade antioxidante por meio da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), bem como pela capacidade antioxidante não enzimática (FRAP); quantificar o dano tecidual por meio da dosagem de proteínas oxidadas e da lipoperoxidação por substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); e da concentração de nitrito no músculo gastrocnêmio.

3. Materiais e Métodos

3.1. Delineamento do estudo

Ratos Wistar machos e fêmeas (230–260 g) foram obtidos e mantidos no Biotério Central da Universidade Nove de Julho e mantidos no Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) somente durante a exposição à poluição atmosférica. Os animais receberam ração padrão e água ad libitum, permanecendo em gaiolas com 3 a 4 animais cada, sob temperatura controlada (22–24 °C) e ciclo claro/escuro de 12 horas. Todos os procedimentos seguiram as orientações do Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA 3141120421) da UNINOVE.

3.2. Desenho experimental

As fêmeas foram alojadas em grupos de duas a três por caixa, juntamente com um macho para acasalamento (total de três machos e seis fêmeas). Após a confirmação da cópula, os machos foram retirados. O protocolo de exposição materna ao material particulado fino (MP_{2,5}) foi iniciado cinco dias após a confirmação da prenhez e mantido até o término da gestação (21 dias), respeitando o período inicial de implantação embrionária, a fim de reduzir riscos de reabsorção e abortos.

Ao final da gestação, foram obtidos aproximadamente 36 filhotes, que foram acompanhados até 60 dias de idade. Esses animais foram distribuídos em grupos experimentais, divididos entre machos e fêmeas (n = 6-8 por sexo/grupo):

- Controles machos (MC) e fêmeas (FC): descendentes de ratas não expostas e mantidos sedentários;
- Expostos à MP_{2,5} sedentários machos (ME) e fêmeas (FE): descendentes de ratas expostas à poluição durante a gestação e mantidos sedentários;
- Expostos à MP_{2,5} treinados machos (MET) e fêmeas (FET): descendentes de ratas expostas à poluição durante a gestação e submetidos a protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica.

Os animais dos grupos ET foram submetidos a oito semanas/5x por semana/1h por dia de treinamento aeróbio em esteira ergométrica, com intensidade moderada ajustada individualmente conforme o teste de esforço máximo. Após 60 dias de acompanhamento,

com ou sem treinamento físico, todos os animais foram submetidos à eutanásia e coleta de tecidos para análises de mediadores inflamatórios por ELISA, além de ensaios bioquímicos para avaliação do estresse oxidativo.

3.3. Exposição de $MP_{2,5}$ em modelo animal

A exposição das genitoras à poluição foi realizada em ambiente controlado, utilizando um concentrador de partículas do ambiente Harvard (Harvard Ambient Particle Concentrator, HAPC). Esse dispositivo emprega tecnologia de impactador virtual para concentrar partículas finas com diâmetro aerodinâmico $\leq 2,5 \mu m$ ($MP_{2,5}$).

A concentração média de 24 horas de $MP_{2,5}$ foi determinada gravimetricamente por meio de impactores de Harvard, operando a uma taxa de fluxo de 10 L/min e equipados com filtros de polycarbonato. Para o experimento, a exposição diária foi ajustada para $600 \mu g/m^3$, limite máximo recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para este tipo de partícula. Os níveis de exposição foram expressos em $\mu g/m^3$.

Os animais foram expostos à concentração de $MP_{2,5}$ durante 16 dias consecutivos, ao longo do período gestacional, iniciando cinco dias após a confirmação do acasalamento.

Para alcançar a concentração-alvo de $600 \mu g/m^3$, foi realizado o cálculo considerando a concentração de poluentes no ar ambiente no momento da exposição ao concentrador (por exemplo, concentração ambiental de $MP_{2,5}$ considerada como $20 \mu g/m^3$).

Ex:

$$\frac{600}{24 \times 20} \times 60 = X \text{ horas de exposição}$$

$$\frac{600}{480} \times 60 = X \text{ horas de exposição}$$

$$1,25 \times 60 = X \text{ minutos de exposição}$$

$$X = 75 \text{ minutos de exposição}$$

Onde 600 representa a quantidade de MP a qual os animais foram expostos; 24 representa o total de horas em 1 dia; 20 a quantidade de MP no momento da exposição; 60 a quantidade de minutos em 1 hora.

3.4. Medidas metabólicas

O peso corporal dos animais foi avaliado a partir do desmame semanalmente até o final dos 60 dias de protocolo.

3.5. Teste de esforço e treinamento físico

Logo após o desmame foi iniciado o treinamento físico. O período de adaptação dos animais à esteira foi de uma semana, por 15 minutos ao dia. O teste de esforço constituiu em um protocolo escalonado com incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que seja atingida a velocidade máxima suportada pelos animais. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o rato não foi mais capaz de correr mediante o incremento de velocidade da esteira ⁽⁵¹⁾. Vale ressaltar que demonstramos relação entre velocidade do atingida no teste de esforço e a medida direta do consumo de oxigênio em ratos ⁽⁴⁸⁾. Os grupos treinados aerobiamente foram submetidos a um protocolo de treinamento físico (40-60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço) em esteira ergométrica com velocidade e carga progressiva, durante 40 sessões, 1 hora por dia ^(49, 50).

3.6. Preservação do tecido muscular

Após as avaliações hemodinâmicas, os animais foram anestesiados seguido da eutanásia por decapitação, os órgãos foram coletados, congelados com nitrogênio líquido e guardado em freezer -80°C para posterior análises bioquímicas e proteica.

3.7. Mediadores inflamatórios

As avaliações de mediadores inflamatórios foram realizadas em gastrocnêmio, congelado previamente em freezer -80°C. A quantidade de tecido muscular utilizado foi em aproximadamente 200-230mg.

3.7.1. Preparação do tecido para análise do ELISA

O tecido muscular coletado foi homogeneizado durante 30 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax, com coquetel pronto de protease e fosfatase (ReadyShield® Protease and Phosphatase Inhibitor Cocktail, Sigma) em tampão fosfato com pH 7,5. Em seguida é adicionado o triton 100 a 1% e incubado em gelo por 30 minutos. Em seguida os homogeneizados foram centrifugados por 30 minutos a 12000rpm, em centrífuga refrigerada entre 0 e 4°C (Eppendorf, 5804-R), e o sobrenadante foi congelado em freezer a -80°C para as dosagens.

Posteriormente a preparação para o teste ELISA, foi feita a dosagem de proteínas totais pelo método Lowry (IL-6, IL-10 e TNF-alfa), de acordo com o ensaio já padronizado, para a normalização dos dados da inflamação pelas proteínas totais presentes na amostra.

3.7.2. ELISA

As dosagens de interleucinas e TNF-alfa no músculo gastrocnêmio foram realizadas em microplacas (96 poços) sensibilizadas com o anticorpo para a proteína de interesse, aderidos à parede dos poços da placa por um substrato imunoabsorvente de acordo com as especificações do fabricante (R&D Systems®). Resumidamente, foi feito o bloqueio prévio de ligações inespecíficas e posterior incubação das amostras experimentais, contendo a proteína (antígeno) a ser dosada. Foi feita a incubação com anticorpo ligado a enzima marcada com peroxidase, e posterior reação com cromógeno. Na mesma placa, foi feita a curva-padrão, que é usada para o cálculo da quantidade de proteína por poço. A absorbância foi medida em aparelho leitor de ELISA. Foram usados kits específicos para ratos: TNF-alfa, IL-10, IL-6 (R&D Systems®). O ensaio para dosagem usou as concentrações na curva-padrão específicas para cada substância.

3.8. Marcadores de estresse oxidativo

As avaliações de marcadores de estresse oxidativo foram realizadas em gastrocnêmio congelado previamente em freezer a -80°C. A quantidade de tecido utilizada foi de aproximadamente 180 - 200mg.

3.8.1. Preparação dos tecidos para análise do estresse oxidativo

O músculo coletado foi homogeneizado durante 60 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax, com KCl 1,15% e fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), na concentração de 100 mmol/L em isopropanol e na quantidade de 10 mL/mL de KCl adicionado. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 4000 rpm, em centrifuga refrigerada entre 0 e 4°C (Eppendorf, 5804-R), e o sobrenadante foi congelado em freezer a -80°C para as dosagens ⁽⁵¹⁾.

3.8.2. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para que ocorra a reação, adicionou-se, a 0,25 mL de homogeneizado, 0,75 mL de ácido tricloroacético a 10% (P/V), que tem a função de desnaturar as proteínas presentes e acidificar o meio de reação. Essa mistura foi agitada e centrifugada durante 3 minutos a 1000 G. Foi retirado 0,5 mL do sobrenadante e a este é adicionado 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,67% (P/V), que reagirá com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de coloração rosada. A mistura foi incubada por 15 minutos a 100°C e em seguida resfriada no gelo. Logo após foi realizada a leitura da absorbância a 535 nm em espectrofotômetro ⁽⁵²⁾.

3.8.3. Dosagem de proteínas carboniladas (Dano a proteínas)

O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente. A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do plasma sanguíneo com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorbância das carbonilas é medida em um espectrofotômetro a 360 nm, num meio de reação contendo os seguintes reagentes: guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH = 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol – acetato de etila 1:1 (V/V). Paralelamente foi realizada a curva padrão de proteína, com albumina, com a absorbância lida em 280nm no espectrofotômetro ⁽⁵³⁾.

3.8.4. NADPH oxidase

A atividade da enzima NADPH oxidase foi determinada em homogeneizado de gastrocnêmio e foi avaliada pela produção de superóxido, determinado por meio de ELISA. Para realização do ensaio foi utilizado buffer fosfato 50 mM contendo EDTA 2 mM e sucrose 150 mM, NADPH 1,3 mM e 10 µL de amostra de tecido muscular. A produção de superóxido é expressa em µM/mg de proteína ⁽⁵⁴⁾.

3.8.5. Peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio foi mensurado por meio da oxidação de vermelho de fenol mediada pela peroxidase de rabanete, levando à formação de um composto mensurável a 630nm. Foi realizada uma curva com H₂O destilada, H₂O₂ 250 µM, solução de Peroxidase de Rabanete (PRS) composta de buffer dextrose, vermelho de fenol (Sigma-Aldrich Corporation) e peroxidase de rabanete tipo II (Sigma-Aldrich Corporation), e hidróxido de sódio (NaOH) (FMAia Gold). Foi adicionado à placa de ELISA 70µL de homogeneizado juntamente com 180µL de PRS e incubadas por 25 minutos a temperatura ambiente. Após este período, foi adicionado 5µL de NaOH e a leitura foi realizada em equipamento leitor de placa de ELISA (Espectra Max 2, Molecular Devices) ⁽⁵⁵⁾.

3.8.6. Capacidade antioxidante não enzimática (FRAP)

O ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro, FRAP (do inglês Ferric Reducing Antioxidant Power), está baseado na produção do íon Fe²⁺ (forma ferrosa) a partir da redução do íon Fe³⁺ (forma férrica) presente no complexo 2,4,6-tripiridils- triazina (TPTZ). Assim, a mudança na absorbância é diretamente relacionada ao poder da redução total de doação de elétrons antioxidantes presentes na reação. Quando a redução ocorre, há uma alteração na tonalidade da mistura de reação, passando de roxo claro a um roxo intenso. Quanto maior a absorbância ou intensidade da coloração, maior será o potencial antioxidante total da amostra. A técnica foi realizada em microplaca, na qual adicionou-se a 290µL de reativo de FRAP (buffer acetato de sódio e ácido acético, pH 3,6; TPTZ 10mM; cloreto férrico hexahidratado 20mM) 10µL de uma

solução-padrão de sulfato ferroso heptahidratado ou 10µL de amostra. A microplaca foi incubada durante 5 minutos com agitação a 37°C. A leitura foi realizada a 593nm ⁽⁵⁶⁾.

3.8.7. Glutathione peroxidase (GPx)

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx. A atividade da GPx foi medida em um espectrofotômetro, sendo monitorada a diminuição de absorvância do NADPH a 340 nm. Na cubeta do espectrofotômetro, foram adicionados 330 µL de tampão, 50 µL homogeneizado (amostra), 500 µL do de NADPH, 10 µL de azida sódica, 50 µL de GSH e 10 µL de glutathione redutase. É registrada a absorvância por um período de aproximadamente 2 minutos, para obtenção da linha de base. Após esse momento, são adicionados 50 de hidroperóxido de tert-butila, e a diminuição da absorvância devida ao consumo de NADPH é monitorada por mais 3 minutos ⁽⁵⁷⁾.

3.8.8. Dosagem de superóxido dismutase (SOD)

A técnica utilizada está baseada na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm (Biospectro) durante 2 minutos. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado. No meio de reação, foram utilizados 5 mL de hemácias, 980 mL de tampão Tris-Fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 10 mL de pirogalol a 24 mmol/L, 5 mL de CAT a 30 mmol/L. Esta curva obtida foi utilizada como branco. Foi feita uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos ⁽⁵⁸⁾.

3.8.9. Nitritos

O total de nitrito sistêmico foi analisado pela reação das amostras com 50ml de reagente de Griess. O total de nitrito tecidual foi estimado a partir de uma curva padrão de absorbância de 540nm ⁽⁵⁹⁾.

3.9. Análise estatística

Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP). A distribuição dos dados foi previamente verificada por um teste de normalidade adequado (por exemplo, Shapiro–Wilk), assegurando o cumprimento dos pressupostos para análises paramétricas. Para a comparação entre os grupos experimentais, utilizou-se análise de variância de uma via (one-way ANOVA). Quando identificadas diferenças globais significativas, aplicou-se o teste post hoc de Tukey para determinar quais pares de grupos apresentavam diferenças estatísticas. Em todas as análises, considerou-se nível de significância de $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1. Peso corporal

Após 60 dias de protocolo, observou-se diferença significativa no peso corporal da prole entre os grupos (Tabela 1). Foi observada diminuição do peso corporal nos animais do grupo MET em relação ao ME ao final do protocolo. Além disto, os grupos de fêmeas (FC, FE e FET) apresentaram menor peso corporal que seus respectivos grupos de machos (MC, ME e MET) (Tabela 1).

Tabela 1. Peso corporal nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET) ao final do protocolo.

	MC (n=6)	ME (n=7)	MET (n=8)	FC (n=6)	FE (n=6)	FET (n=7)
Peso (g)	328,3±7,1	343,6±5,7	322,5±6,1&	198,0±6,4*	210,0±2,5&	200,7±3,0§

Dados representados como média ± desvio padrão da média. *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; § P<0,05 vs. MET.

4.2. Peso do gastrocnêmio

Os grupos de fêmeas (FC, FE e FET) apresentaram menor peso do gastrocnêmio que seus respectivos grupos de machos (MC, ME e MET) (Tabela 2).

Tabela 2. Peso do músculo gastrocnêmio da prole após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET).

	MC (n=8)	ME (n=8)	MET (n=7)	FC (n=8)	FE (n=6)	FET (n=7)
Peso (g)	1,54±0,19	1,54±0,22	1,42±0,17	1,05±0,07*	0,97±0,29&	0,94±0,05§

Dados representados como média ± desvio padrão da média. Peso de gastrocnêmio: final (após 60 dias de protocolo). *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; § P<0,05 vs. MET.

4.3. Teste de esforço máximo

Foi observado maior tempo de teste na esteira em ambos os grupos treinados (MET e FET) em relação aos grupos controles (MC e FC) e expostos (ME e FE) ao final do protocolo (Tabela 3, Figura 1).

Tabela 3. Teste de esforço máximo (TM) em esteira nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET) ao final de protocolo.

	MC (n=6)	ME (n=6)	MET (n=8)	FC (n=6)	FE (n=6)	FET (n=8)
TM (min)	21,33 ±1,25	21,05±0,05	28,17±1,05*#&†	20,51±2,05	21,51±0,17	29,71±1,83*#&†

Dados representados como média ± desvio padrão da média. Teste de esforço: 3º teste (semana 8).

*P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; †P<0,05 vs. FE.

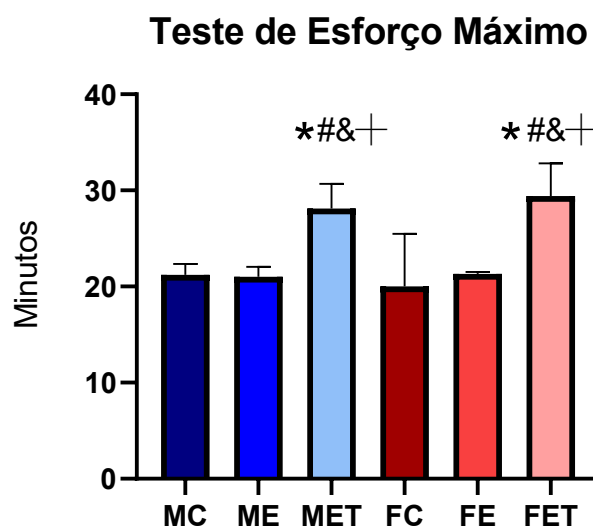


Figura 1. Teste de esforço Máximo em esteira após o período experimental nos grupos: MC, FC, ME, FE, MET e FET. O teste foi realizado por protocolo escalonado (0,3 km/h a cada 3 minutos) até a exaustão. Dados representados como média ± desvio padrão da média. Teste de esforço: 3º teste (semana 8). *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; †P<0,05 vs. FE.

4.4. Mediadores inflamatórios

A exposição gestacional ao MP_{2,5} e o treinamento físico modularam os níveis de mediadores inflamatórios no músculo esquelético da prole (Tabela 4). Os níveis de TNF-alfa foram significativamente menores no grupo MET em comparação aos grupos MC e ME. Verificou-se redução significativa de TNF-alfa nos grupos FC e FE em relação aos grupos MC e ME. O grupo FET foi semelhante ao grupo MET. Para IL-6, nos machos observou-se aumento significativo no grupo ME em relação ao MC, enquanto nas fêmeas não houve diferença significativa entre os grupos estudados. Os níveis de IL-10

apresentaram redução nos grupos ME e MET quando comparados ao grupo MC. Por consequência, a razão TNF-alfa/IL-10 também foi reduzida nos grupos MET e FET, em ambos os sexos, quando comparada aos seus respectivos controles (MC e FC) e animais expostos (ME e FE). Essa razão foi menor nos grupos FC e FE em relação aos grupos MC e ME, respectivamente (Tabela 4, Figura 2).

Tabela 4. Avaliações dos mediadores inflamatórios em tecido muscular após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET).

	MC (n=6)	ME (n=8)	MET (n=7)	FC (n=8)	FE (n=6)	FET (n=6)
TNF-alfa (pg/mg)	29,81±11,09	22,45±6,06	4,19±1,76*&	10,05±4,08*	4,87±2,44&	2,99±1,27
IL-6 (pg/mg)	22,58±3,63	31,47±6,85*	22,11±4,56&	21,39±2,76	25,89±2,30	21,64±3,54
IL-10 (pg/mg)	101,34±24,56	48,43±15,45*	37,42±18,90*	45,51±15,47*	21,16±2,75&	24,72±3,24
TNF-alfa/IL-10	0,39±0,03	0,36±0,05	0,17±0,05*&	0,25±0,06*	0,21±0,05&	0,12±0,04#

Dados representados como média ± desvio padrão da média. Mediadores inflamatórios: fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-10 (IL-10). mg: mg de proteína.

*P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC.

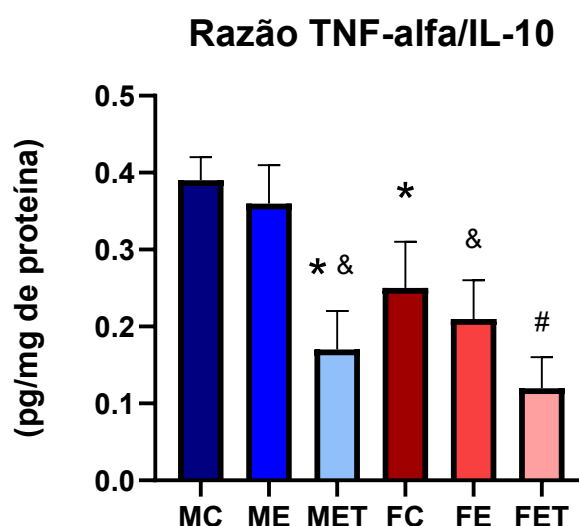


Figura 2. Razão TNF-alfa/IL-10 em tecido muscular gastrocnêmio após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET). Dados representados como média ± desvio padrão da média. *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC.

4.5. Marcadores de estresse oxidativo e nitrosativo

Foi observada redução significativa da capacidade antioxidante total (FRAP) no grupo FE e FET em comparação ao grupo FC, todavia a FRAP foi maior no grupo FET em comparação ao grupo FE (Figura 3). A atividade de Superóxido Dismutase (SOD) foi reduzida em machos expostos em comparação ao grupo controle MC, enquanto nos grupos treinados houve recuperação da atividade antioxidante, o grupo FET apresentou aumento da atividade antioxidante quando comparado ao seu grupo controle FC (Tabela 5). Não houve diferenças para Glutathione redutase (GPx), (Tabela 5). Entre os marcadores de espécies reativas de oxigênio, a concentração de peróxido de hidrogênio apresentou aumento significativo no grupo ME em relação ao grupo MC. O treinamento físico atenuou tal alteração, sendo observado valores menores de peróxido de hidrogênio no grupo MET em comparação ao grupo ME (Figura 4). A atividade da NADPH oxidase foi menor no grupo MET quando comparado ao grupo ME. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de fêmeas para peróxido de hidrogênio e NADPH oxidase em tecido muscular (Figura 5). A lipoperoxidação, avaliada por TBARS, foi menor no grupo MET em relação aos grupos MC e ME, sem diferenças adicionais entre os grupos de fêmeas (Tabela 5, Figura 6). Não houve diferenças para dano a proteínas (carbonilas), (Tabela 5) e biodisponibilidade de NO (nitritos) em tecido muscular nos grupos avaliados (Tabela 6).

Tabela 5. Avaliação dos mediadores de estresse oxidativo após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET).

	MC (n=6)	ME (n=8)	MET (n=7)	FC (n=8)	FE (n=6)	FET (n=6)
Antioxidantes						
FRAP (mM Fe(ii))	0,11±0,02	0,10±0,02	0,09±0,01	0,13±0,02	0,04±0,03&#	0,08±0,01#†
GPx (nmol/min/mg)	3,94±1,56	3,31±2,16	3,88±1,33	2,48±0,45	3,37±1,61	3,62±0,98
SOD (USOD/mg)	13,23±1,32	11,08±0,58*	12,86±1,16	11,43±1,27	12,12±1,17	13,80±1,87#
Oxidantes						
H₂O₂ (µM H₂O₂)	1,66±0,12	3,09±1,18*	1,77±0,50&	2,18±0,76	2,37±1,24	1,14±0,29
NADPHoxidase (nmol/mg)	0,12±0,03	0,17±0,08	0,08±0,03&	0,10±0,03	0,14±0,04	0,10±0,04
Dano Oxidativo						
Carbonilas (nmol/mg)	1,42±0,29	1,36±0,26	1,34±0,25	1,44±0,15	1,30±0,08	1,22±0,23
TBARS (µmol/mg)	1,84±0,82	1,93±0,65	0,83±0,37*&	1,60±0,63	1,28±0,12	1,19±0,41

Dados representados como média ± desvio padrão da média. Parâmetros de estresse oxidativo. Antioxidantes: Capacidade antioxidante total não enzimática (FRAP). Oxidantes: Peróxido de hidrogênio (H₂O₂), Enzima NADPH oxidase (NADPHoxidase), Proteínas oxidadas (carbonilas), Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). mg: mg de proteína. *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; †P<0,05 vs. FE.

Tabela 6. Estresse nitrosativo após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET).

	MC (n=6)	ME (n=8)	MET (n=7)	FC (n=8)	FE (n=6)	FET (n=6)
Estresse Nitrosativo						
Nitrito (nmol/mg)	0,50±0,17	0,57±0,16	0,64±0,08	0,51±0,15	0,57±0,16	0,60±0,17

Dados representados como média ± desvio padrão da média. Parâmetros de estresse nitrosativo. nmol/mg de proteína.

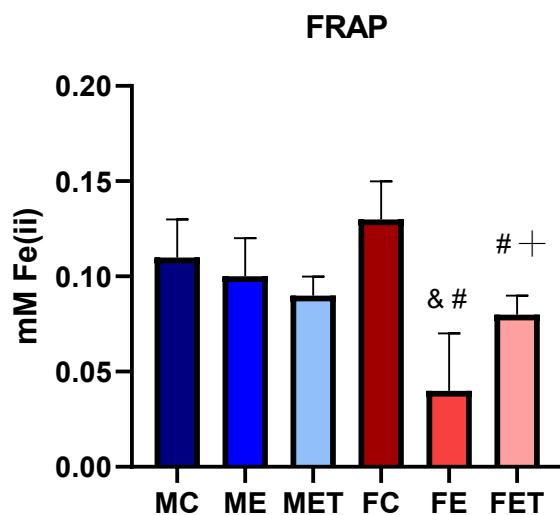


Figura 3. Capacidade Antioxidante não enzimática (FRAP) após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET). Dados representados como média $\pm$ desvio padrão da média. &P<0,05 vs. ME; #P<0,05 vs. FC; + P<0,05 vs. FE.

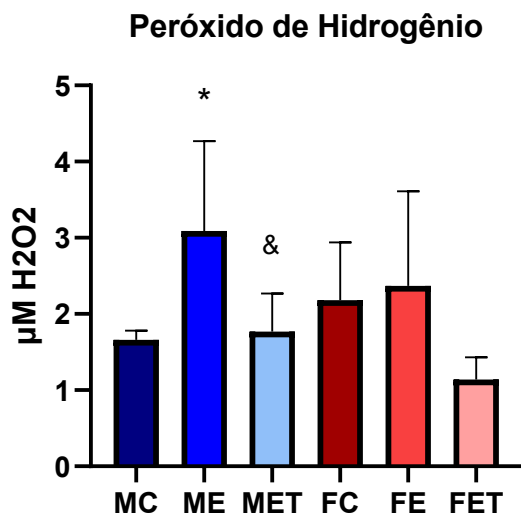


Figura 4. Peróxido de hidrogênio após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET). Dados representados como média $\pm$ desvio padrão da média. *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME.

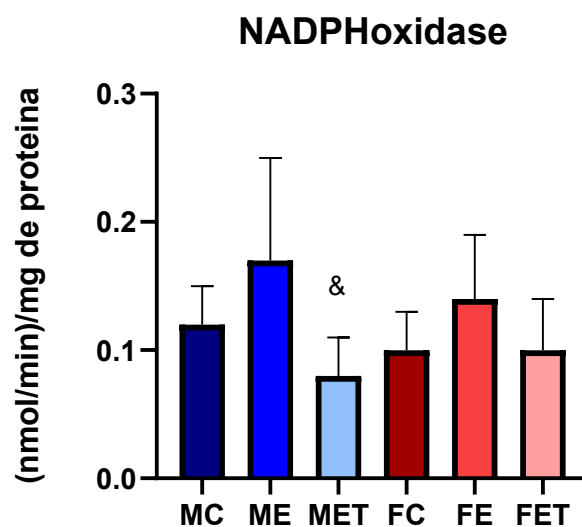


Figura 5. NADPH oxidase após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET). Dados representados como média $\pm$ desvio padrão da média. &P<0,05 vs. ME.

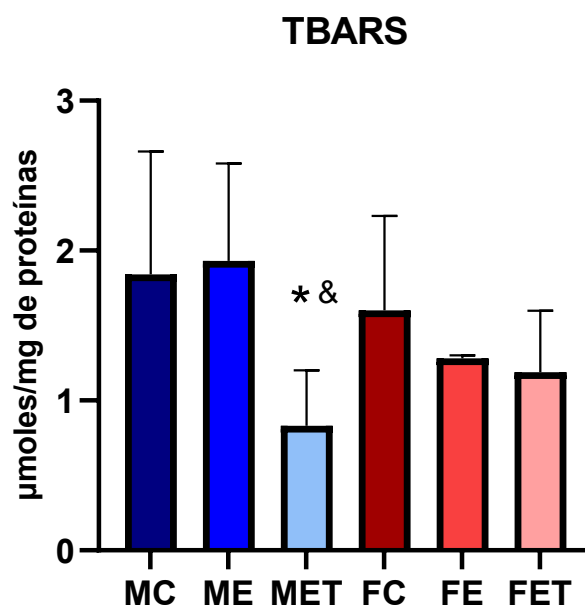


Figura 6. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) após 60 dias de protocolo nos grupos de prole de machos e fêmeas controles (MC e FC), prole de machos e fêmeas expostos (ME e FE) e prole de machos e fêmeas treinados (MET e FET). Dados representados como média $\pm$ desvio padrão da média. *P<0,05 vs. MC; &P<0,05 vs. ME.

4.6. Análises de correlação de Pearson

As análises de correlação de Pearson foram realizadas exclusivamente nos grupos expostos ao MP_{2,5}, considerando apenas variáveis com distribuição paramétrica (5 a 6 animais por grupo) e estratificação por sexo.

A razão TNF- α /IL-10 apresentou associações distintas com marcadores de estresse oxidativo entre machos e fêmeas. Nos machos, foram observadas correlações significativas com a atividade da SOD ($r = -0,63$; $p = 0,02$), níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂; $r = 0,69$; $p = 0,01$), atividade da NADPH oxidase ($r = 0,64$; $p = 0,04$) e TBARS ($r = 0,70$; $p = 0,01$). Não foram observadas correlações significativas entre a razão TNF- α /IL-10 e a capacidade antioxidante total (FRAP) nos machos (Tabela 7).

Nas fêmeas, a razão TNF- α /IL-10 correlacionou-se negativamente com a atividade da SOD ($r = -0,70$; $p = 0,04$), com a FRAP ($r = -0,72$; $p = 0,03$), além de apresentar correlação positiva com a atividade da NADPH oxidase ($r = 0,71$; $p = 0,03$). Não foram observadas correlações significativas com os níveis de H₂O₂ ou TBARS para este sexo.

Em conjunto esses resultados indicam que o desequilíbrio inflamatório no músculo esquelético estava relacionado piora no equilíbrio redox, com respostas sexo-dependentes na prole exposta ao MP_{2,5} (Tabela 7).

Tabela 7. Correlações de Pearson obtidas nos grupos expostos (5-6 animais por grupo) entre razão TNF- α /IL-10 com marcadores de estresse oxidativo em tecido muscular.

TNF- α /IL-10		
MACHOS	r	P
SOD	-0,63	0,02
FRAP	-0,29	0,33
H ₂ O ₂	0,69	0,01
NADPH oxidase	0,64	0,04
TBARS	0,70	0,01
FEMÊAS	r	P
SOD	-0,70	0,04
FRAP	-0,72	0,03
H ₂ O ₂	0,30	0,44
NADPH oxidase	0,71	0,03
TBARS	0,22	0,60

Dados representados como correlações de Pearson (r) entre razão TNF- α /IL-10 e marcadores de estresse oxidativo (SOD, FRAP, H₂O₂, NADPH oxidase e TBARS) em tecido muscular, considerando 5–6 animais por grupo. Valores de significância (p) foram reportados, com $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. Dados estão separados por sexo.

Observou-se correlação positiva moderada entre o desempenho no teste de esforço máximo e a massa do músculo gastrocnêmio, tanto em machos ($r = 0,64$; $p = 0,05$) quanto em fêmeas ($r = 0,60$; $p = 0,05$), indicando que a preservação da massa muscular estava diretamente associada à capacidade funcional dos animais expostos à poluição atmosférica (Tabela 8).

Adicionalmente, o desempenho no teste de esforço apresentou correlação negativa com os níveis de lipoperoxidação (TBARS) em machos ($r = -0,64$; $p = 0,04$) e fêmeas ($r = -0,56$; $p = 0,01$) e com a razão TNF- α /IL-10 em ambos os sexos (machos: $r = -0,73$; $p = 0,02$; fêmeas: $r = -0,74$; $p = 0,02$), indicando que o estresse oxidativo e um perfil pró-inflamatório musculares estavam associados a pior capacidade funcional da prole exposta ao MP_{2,5} (Tabela 8).

Tabela 8. Correlações de Pearson obtidas nos grupos expostos (5-6 animais por grupo) entre teste de esforço com massa do gastrocnêmio, lipoperoxidação e razão TNF-alfa/IL-10 em tecido muscular.

	Teste de esforço	
MACHOS	r	P
Massa do gastrocnêmio	0,64	0,05
TBARS	-0,64	0,04
TNF-alfa/IL-10	-0,73	0,02
FEMÊAS	r	P
Massa do gastrocnêmio	0,60	0,05
TBARS	-0,56	0,01
TNF-alfa/IL-10	-0,74	0,02

Dados representados como correlações de Pearson (r) entre teste de esforço máximo, massa do gastrocnêmio, TBARS e razão TNF-alfa/IL-10 em tecido muscular, considerando 5–6 animais por grupo. Valores de significância (p) foram reportados, com $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. Dados estão separados por sexo.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstra que a exposição gestacional ao material particulado fino ($MP_{2,5}$) induz alterações no tecido muscular da prole, com respostas moduladas pelo sexo biológico e pelo treinamento físico pós-natal. Esses achados corroboram o conceito de programação fetal, segundo o qual insultos ambientais durante períodos críticos do desenvolvimento podem desencadear adaptações estruturais e metabólicas duradouras. Nesse contexto, a exposição à poluição atmosférica tem sido associada a alterações na morfologia e na função placentária, comprometendo o transporte de oxigênio e nutrientes ao feto, o que pode representar um mecanismo subjacente às alterações musculares observadas na prole ⁽²⁸⁾. No contexto deste estudo, observou-se que a exposição intrauterina a $MP_{2,5}$ induziu um perfil inflamatório e de desbalanço redox muscular na prole de ambos os sexos, com maior vulnerabilidade em machos, configurando um ambiente biológico desfavorável ao adequado desenvolvimento muscular. Todavia, nossos achados mais importantes, foram os efeitos benéficos do treinamento físico na atenuação destes prejuízos precoces musculares.

O $MP_{2,5}$ potencializa a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), promovendo inflamação e estresse oxidativo, com consequente dano a tecidos sensíveis, como pulmões, coração e músculo esquelético. Estudos epidemiológicos e experimentais indicam que a exposição crônica a poluentes atmosféricos, incluindo $MP_{2,5}$, MP_{10} e dióxido de nitrogênio (NO_2), está associada a prejuízos musculoesqueléticos relevantes. Nesse contexto, a American Heart Association, com base em evidências provenientes de estudos populacionais com grande número de indivíduos, destaca que a poluição atmosférica está fortemente associada ao aumento da mortalidade cardiovascular, sendo seus efeitos mediados por inflamação sistêmica, disfunção endotelial e estresse oxidativo ⁽³³⁾. Um estudo de revisão recente destacou que a exposição crônica ao $MP_{2,5}$ está associada à redução da densidade mineral óssea, ao aumento do risco de osteoporose e a alterações estruturais relevantes, mediadas por inflamação sistêmica, estresse oxidativo e desequilíbrios no remodelamento ósseo ⁽¹⁸⁾. Embora o foco principal seja a saúde óssea, esses mecanismos também estão diretamente envolvidos no declínio da massa e da função muscular, características centrais da sarcopenia. Nesse contexto, tais evidências sugerem que a poluição atmosférica pode contribuir para um fenótipo mais

amplo de comprometimento musculoesquelético, reforçando a importância de investigar sua associação com desfechos relacionados à sarcopenia ⁽⁶⁰⁾.

Em uma coorte composta por 395 indivíduos (≥ 65 anos) residentes em Taipei e acompanhados por cinco anos, observou-se que cada incremento de $4,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ na concentração de $\text{MP}_{2,5}$ esteve associado a um declínio anual na força de preensão de $-0,16 \text{ kg}/\text{ano}$, à perda de massa muscular de $-0,14 \text{ kg}/\text{ano}$ e ao aumento da gordura corporal em $+0,21 \text{ kg}/\text{ano}$ ⁽¹⁴⁾. Em uma análise prospectiva do UK Biobank, envolvendo 352.265 adultos, observou-se que cada aumento interquartil na concentração de $\text{MP}_{2,5}$ elevava em 6% as chances de desenvolver o quadro definido como sarcopenia provável, segundo os critérios da EWGSOP2 ⁽⁶¹⁾. Corroborando esses achados, estudos longitudinais adicionais em humanos demonstram associação entre exposição à poluição atmosférica e declínio progressivo da massa e da força muscular ⁽¹³⁾. Embora esses estudos não permitam a avaliação direta dos mecanismos moleculares subjacentes, evidências experimentais e revisões indicam que os efeitos da poluição sobre o músculo esquelético são mediados por estresse oxidativo, inflamação crônica e disfunção mitocondrial, resultando em alterações estruturais e funcionais das fibras musculares ⁽¹²⁾.

Além disso, evidências prévias indicam que a exposição intrauterina a poluentes atmosféricos está associada ao baixo peso ao nascer e a alterações no crescimento pós-natal, fatores que podem comprometer o desenvolvimento de tecidos metabolicamente ativos, como o músculo esquelético. Esses efeitos podem estar relacionados, ao menos em parte, a alterações na função placentária e na disponibilidade de oxigênio e nutrientes ao feto ⁽⁴⁹⁾. No presente estudo não observamos alterações no peso corporal na prole de ambos os sexos submetida à exposição gestacional ao $\text{MP}_{2,5}$. A redução do peso corporal nos animais machos expostos e treinados pode refletir adaptações metabólicas induzidas pelo exercício físico regular.

A exposição materna ao $\text{MP}_{2,5}$ pode induzir disfunção placentária, caracterizada por alterações na vascularização, aumento do estresse oxidativo e inflamação local, resultando em redução da oferta de oxigênio e nutrientes ao feto ⁽²⁸⁾. Esse ambiente intrauterino adverso pode desencadear adaptações metabólicas compensatórias e modular vias epigenéticas relacionadas ao metabolismo energético e ao desenvolvimento muscular. Além disso, o excesso de EROs pode comprometer vias celulares essenciais

para o crescimento e a manutenção do músculo esquelético, afetando tanto processos anabólicos, como a via PI3K/Akt/mTOR, quanto mecanismos catabólicos mediados por fatores de transcrição como FoxO ⁽⁵²⁾.

Nesse sentido, estudos conduzidos em modelos experimentais com roedores demonstram que a exposição ao MP_{2,5} está associada a alterações no músculo esquelético, incluindo aumento do estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e ativação de vias inflamatórias ⁽¹⁸⁾. Essas alterações são compatíveis com um processo de programação intrauterina adversa, no qual exposições ambientais precoces podem induzir modificações estruturais e funcionais persistentes nos tecidos ⁽³⁴⁾. Adicionalmente, a ativação de vias inflamatórias, particularmente aquelas mediadas por fatores de transcrição pró-inflamatórios, está diretamente associada a processos de atrofia e remodelamento do músculo esquelético podendo ser exacerbada por mecanismos inflamatórios induzidos pela exposição a poluentes atmosféricos ⁽³⁶⁾.

No que se refere ao tecido muscular, apesar de não termos observados alterações no peso do gastrocnêmio na prole de animais expostos à MP_{2,5}, as alterações musculares observadas sugerem prejuízos na integridade estrutural e na homeostase metabólica, possivelmente relacionados ao aumento do estresse oxidativo e da inflamação sistêmica. Essas condições podem impactar diretamente processos como síntese proteica, regeneração muscular e função mitocondrial, contribuindo para um fenótipo muscular menos eficiente. Nossos dados demonstram que a exposição gestacional ao MP_{2,5} promoveu um ambiente inflamatório e de desequilíbrio redox no músculo esquelético da prole, indicando que a programação adversa envolve mecanismos moleculares ao longo do desenvolvimento pós-natal. Nos machos expostos, o aumento de IL-6 sugere ativação sustentada de um perfil pró-inflamatório, o qual está intimamente associado ao aumento da produção de EROs e à manutenção de um estado de estresse oxidativo. Essa interação entre inflamação e estresse oxidativo favorece a perpetuação de um ambiente celular desfavorável, no qual mediadores inflamatórios e EROs atuam de forma interdependente, amplificando o desequilíbrio redox e contribuindo para alterações funcionais no tecido muscular. Embora a IL-6 exerça papel fisiológico como miocina durante o exercício agudo, contribuindo para adaptação metabólica, sua elevação crônica está associada à resistência insulínica e à ativação de vias catabólicas musculares ⁽⁴¹⁾. A

ausência de alterações mais consistentes dessa citocina entre os grupos pode estar relacionada ao seu caráter transitório e pleiotrópico, além da influência de mecanismos compensatórios desencadeados pelo treinamento físico e pela adaptação ao insulto ambiental ^{(63), (64)}. Nas fêmeas, a redução de IL-10 indica comprometimento da modulação anti-inflamatória basal, favorecendo a manutenção de inflamação de baixo grau e potencializando efeitos deletérios sobre o metabolismo e a homeostase proteica muscular ⁽⁶⁵⁾. Considerando que a IL-10 exerce importante papel anti-inflamatório e citoprotetor no músculo esquelético, sua redução contribui para consolidação de um microambiente pró-inflamatório e pró-oxidante mais persistente ⁽⁶⁶⁾.

Corroborando um cenário de desequilíbrio redox, observou-se aumento de H_2O_2 e redução de SOD na prole exposta de machos, e redução de FRAP na prole exposta de fêmeas, evidenciando que a exposição ao $MP_{2,5}$ envolve simultaneamente indução de maior geração de EROs e comprometimento dos sistemas de neutralização dessas espécies. Vale destacar que embora o H_2O_2 possa atuar como modulador fisiológico de vias intracelulares, sua elevação sustentada está associada à ativação de vias catabólicas, disfunção mitocondrial e prejuízo da homeostase proteica ⁽⁶⁷⁾. A diminuição da atividade antioxidante, como a SOD e a FRAP, reforça a consolidação de um ambiente pró-oxidante persistente, uma vez que os antioxidantes constituem a principal linha de defesa contra o acúmulo de ânion superóxido e peróxidos no tecido muscular ⁽⁶⁷⁾.

De fato, evidências indicam que a exposição ao $MP_{2,5}$ pode desencadear disfunção mitocondrial no músculo esquelético, caracterizada por prejuízos na biogênese mitocondrial, perda de cristas, aumento do estresse oxidativo e redução na produção de ATP, mecanismos capazes de favorecer atrofia muscular, comprometimento contrátil e menor capacidade de regeneração tecidual ⁽¹²⁾. A inalação de partículas finas e gases poluentes induz uma resposta inflamatória sistêmica, elevando citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 beta (IL-1 β) ⁽⁶⁸⁾. Essas citocinas pró-inflamatórias atuam diretamente no tecido muscular, ativando o sistema ubiquitina-proteassoma e inibindo a via anabólica mediada por mTOR, essencial para a síntese proteica e a regeneração muscular, resultando em perda progressiva de massa e função muscular ⁽⁶⁹⁾. Além disto, o estresse oxidativo, decorrente da produção exacerbada de EROs, provoca danos a proteínas, lipídeos e DNA muscular.

Isso interfere em vias de sinalização celular cruciais, como mTOR e IGF-1, comprometendo função e regeneração muscular ⁽⁶⁷⁾.

Vale destacar ainda as correlações que obtivemos entre a razão TNF-alfa/IL-10 e os marcadores de estresse oxidativo na prole exposta. Na prole exposta de machos a razão TNF-alfa/IL-10 apresentou correlação com os níveis de peróxido de hidrogênio, NADPH oxidase e lipoperoxidação, bem como correlação inversa com a SOD. Nas fêmeas expostas, a razão TNF-alfa/IL-10 correlacionou-se com a atividade da NADPH oxidase, e de forma negativa a SOD e com a FRAP. Estes achados evidenciam que mesmo medidas que não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos, tiveram uma associação entre um estado pró-inflamatório muscular com o aumento de pró-oxidantes, redução de antioxidantes e maior dano oxidativo. Esse desbalanço entre produção e neutralização de EROs sugere que a exposição gestacional ao MP_{2,5} promove uma reprogramação duradoura da homeostase redox muscular. As EROs podem ativar NF-κB, intensificando a produção de citocinas pró-inflamatórias, enquanto mediadores inflamatórios estimulam sistemas geradores de EROs, como a NADPH oxidase, perpetuando o ciclo inflamação–oxidativo ⁽⁶⁷⁾. Esse circuito compromete progressivamente a integridade estrutural das fibras musculares, favorece lipoperoxidação, prejudica o acoplamento excitação–contração e reduz a eficiência bioenergética mitocondrial ⁽⁶⁷⁾. Assim, os achados do presente estudo indicam que o prejuízo muscular observado reflete um remodelamento imunometabólico persistente estabelecido ainda no período intrauterino. Tal remodelamento sugere que a exposição gestacional ao MP_{2,5} consolida um microambiente pró-inflamatório e pró-oxidante duradouro, capaz de comprometer a funcionalidade muscular ao longo da vida, mesmo na ausência inicial de alterações morfológicas e funcionais evidentes.

Neste sentido, evidências indicam que disfunção mitocondrial, aumento de EROs e ativação inflamatória crônica de baixo grau podem preceder alterações morfológicas detectáveis no músculo esquelético, configurando um fenótipo metabolicamente vulnerável. Alterações na eficiência da fosforilação oxidativa, aumento da produção mitocondrial de EROs e ativação sustentada de vias inflamatórias podem comprometer a homeostase proteica e a capacidade adaptativa do tecido antes que ocorra perda mensurável de massa muscular. Esse descompasso entre alterações moleculares e

estruturais reforça a importância da análise integrada de marcadores bioquímicos e funcionais na identificação precoce de programação adversa ^(30, 34). Dessa forma, os achados do presente estudo evidenciam que a ausência de alterações em massa muscular não exclui a presença de reprogramação significativa. Em conjunto, os achados indicam que a exposição gestacional ao MP_{2,5} estabelece um fenótipo muscular caracterizado por desregulação imunometabólica e maior vulnerabilidade, com impacto mais pronunciado nos machos.

Nossos resultados evidenciam que o treinamento físico pós-natal demonstrou capacidade consistente de modular as alterações inflamatórias e redox induzidas pela exposição gestacional ao MP_{2,5} no tecido muscular, reforçando a capacidade de modulação pós-programação do fenótipo muscular. Nos grupos treinados, observou-se redução de TNF-alfa (em machos) e IL-6 (em machos), normalização de IL-10 (em fêmeas) e melhora da razão TNF-alfa/IL-10 (em ambos os sexos), indicando atenuação do desequilíbrio pró/anti-inflamatório muscular. Adicionalmente, houve redução de H₂O₂ e da atividade da NADPH oxidase (em machos), bem como aumento da SOD (em ambos os sexos) e da FRAP (em fêmeas), sugerindo reativação de mecanismos citoprotetores, que podem ter desencadeado redução de dano tecidual evidenciado por menor TBARS em machos ^(39, 41). Vale destacar que o treinamento físico estimula a biogênese mitocondrial, melhora o equilíbrio redox e modula vias inflamatórias, atenuando os danos induzidos por poluentes e favorecendo a manutenção da função contrátil muscular. Revisões abrangentes envolvendo dados de humanos adultos e modelos animais demonstram que o treinamento físico aumenta a atividade das enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase, reforçando seu papel na proteção contra os efeitos deletérios da poluição sobre o músculo esquelético ^(35, 39). Em modelos experimentais, a exposição ao MP_{2,5} reduziu a área de secção transversal das fibras, induziu estresse oxidativo e inflamação, enquanto o treinamento físico preservou parcialmente a integridade estrutural, reduziu TBARS e IL-1 β e estimulou respostas antioxidantes ^(18, 67). Evidências indicam ainda que o exercício físico regular fortalece os sistemas antioxidantes endógenos e modula a resposta inflamatória, contribuindo para neutralizar os efeitos deletérios da poluição atmosférica ⁽³⁹⁾.

Interessantemente, quando analisados por sexo, os dados indicam respostas parcialmente distintas ao treinamento físico. Nos machos, os efeitos do treinamento físico parecem estar mais associados à redução da produção de EROs e à atenuação da resposta pró-inflamatória, refletindo maior controle sobre o ambiente pró-oxidante previamente estabelecido. Por outro lado, nas fêmeas, observa-se maior contribuição do aumento da capacidade antioxidante e da modulação de mediadores anti-inflamatórios, sugerindo recuperação mais pronunciada dos sistemas de defesa redox. Essas diferenças sugerem que, embora o treinamento físico atue de forma benéfica em ambos os sexos, os mecanismos predominantes de adaptação podem variar, possivelmente em função de diferenças hormonais, metabólicas e da própria programação induzida pela exposição gestacional aos poluentes. Esses achados estão de acordo com evidências experimentais prévias que demonstram respostas cardiovasculares, inflamatórias e redox distintas entre machos e fêmeas submetidos ao treinamento físico ^(71,72). O treinamento aeróbico melhorou o desempenho funcional, o controle autonômico cardiovascular e marcadores de estresse oxidativo em ratos normotensos, sendo esses benefícios mais evidentes nas fêmeas. A lipoperoxidação cardíaca foi menor nos grupos treinados machos e fêmeas em comparação aos machos sedentários. Apenas o grupo treinado fêmeas apresentou redução da lipoperoxidação renal e melhora no equilíbrio redox cardíaco. As fêmeas treinadas também demonstraram maiores benefícios na capacidade antioxidante renal, na glutatona oxidada cardíaca e aumento da concentração de nitrito ⁽⁷¹⁾. Além disto, em ratos espontaneamente hipertensos, o treinamento físico promoveu adaptações antioxidantes e neuroimunes relevantes, com respostas parcialmente dependentes do sexo biológico e do estado hormonal. Nossos resultados mostraram que as fêmeas SHR ovariectomizadas apresentaram efeitos mais pronunciados na hemodinâmica, na variabilidade da pressão arterial e no perfil anti-inflamatório sistêmico do que os machos hipertensos submetidos à combinação de treinamento físico combinado e tratamento com enalapril ⁽⁷²⁾. Em conjunto, os achados reforçam a influência do dimorfismo sexual sobre os efeitos fisiológicos do treinamento físico no controle do estresse oxidativo e da inflamação em diferentes tecidos.

Nesse contexto, os efeitos do treinamento físico podem ser explicados, em grande parte, pela modulação integrada entre inflamação e estresse oxidativo. A redução de

mediadores pró-inflamatórios e de EROs, associada ao aumento da capacidade antioxidante, indica a atenuação do ciclo inflamação–oxidativo previamente estabelecido, contribuindo para a restauração de um ambiente celular mais favorável à função muscular. Neste sentido, a melhora funcional (maior tempo de teste de esforço) observada parece estar diretamente relacionada à restauração do equilíbrio redox e à redução da ativação inflamatória crônica, processos intimamente associados à disfunção muscular. Ou seja, a melhora do desempenho físico observada nos grupos treinados demonstra que as alterações bioquímicas e estruturais possuem tradução funcional mensurável. A correlação positiva entre massa do gastrocnêmio e desempenho na esteira confirma a relação direta entre integridade estrutural e capacidade funcional. Além disto, as correlações inversas entre desempenho com lipoperoxidação (TBARS) e razão TNF-alfa/IL-10 reforçam que o ambiente pró-oxidante e pró-inflamatório compromete eficiência metabólica e o desempenho. Esses dados fortalecem a interpretação de que a programação gestacional pelo MP_{2,5} afetam a qualidade e a funcionalidade do tecido muscular. O dimorfismo sexual observado ao longo das análises indica que sexo biológico constitui variável modificadora essencial na resposta à exposição gestacional e ao treinamento físico. Fêmeas apresentaram maior comprometimento antioxidante global, enquanto machos exibiram maior produção de EROs e resposta inflamatória mais acentuada em decorrência da exposição in útero ao MP_{2,5}. Contudo, machos demonstraram resposta mais robusta ao treinamento físico em termos de desempenho físico. Essas diferenças podem refletir interações entre hormônios sexuais, regulação mitocondrial e vias inflamatórias, além de possíveis diferenças epigenéticas na resposta à exposição ambiental.

Os achados possuem relevância translacional significativa, pois indicam que a exposição gestacional ao MP_{2,5} pode comprometer a reserva muscular e a capacidade funcional ao longo da vida, potencialmente aumentando o risco de fragilidade, sarcopenia precoce e disfunções metabólicas em populações expostas à poluição urbana. O exercício físico regular mostrou-se estratégia eficaz, de baixo custo e aplicabilidade ampla, capaz de modular inflamação, restaurar parcialmente o equilíbrio redox e melhorar desempenho funcional. Assim, intervenções precoces baseadas em atividade física podem representar abordagem preventiva promissora em populações vulneráveis. Além

disso, seus resultados reforçam a importância de políticas ambientais voltadas à redução da exposição ao $MP_{2,5}$, associadas à promoção de estilos de vida ativos, como estratégia integrada de saúde pública, evidenciando que os efeitos da poluição ultrapassam o sistema respiratório e cardiovascular, atingindo também a saúde musculoesquelética.

6. Conclusão

A exposição gestacional ao MP_{2,5}, embora não tenha impactado a massa muscular ou a capacidade física, promoveu alterações precoces no perfil inflamatório e no equilíbrio redox do músculo esquelético da prole, com maior suscetibilidade observada em machos e associação com pior desempenho funcional, sugerindo aumento do risco de fragilidade e sarcopenia ao longo da vida.

Por outro lado, o treinamento físico pós-natal mostrou-se eficaz em atenuar esses efeitos adversos, modulando a resposta inflamatória e o estresse oxidativo, além de melhorar a capacidade funcional, reforçando o papel dessa abordagem no manejo de disfunções musculoesqueléticas na prole de ambos os sexos exposta ao MP_{2,5}.

Em conjunto, esses resultados sustentam o papel do exercício físico regular como estratégia não farmacológica relevante para mitigar as repercussões da exposição intrauterina à poluição do ar sobre o músculo esquelético, com potenciais implicações na prevenção de desfechos metabólicos e funcionais ao longo da vida. Ademais, tais achados destacam a importância da implementação de políticas públicas que integrem a redução da poluição ambiental à promoção de estilos de vida fisicamente ativos.

7. Referências

1. WHO global air quality guidelines: particulate matter (PM2.5 and PM10), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide [Internet]. [citado 25 de agosto de 2025]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240034228>
2. Global Burden of Disease (GBD) [Internet]. [citado 1º de setembro de 2025]. Disponível em: <https://www.healthdata.org/research-analysis/gbd>
3. Environmental Statement report 2022 | European Environment Agency's home page [Internet]. [citado 1º de setembro de 2025]. Disponível em: <https://www.eea.europa.eu/en/analysis/publications/environmental-statement-report-2022>
4. Sant'Anna A, Alencar A, Pinheiro B, Araújo C, Vormittag E, Wicher H, et al. O ESTADO DA QUALIDADE DO AR NO BRASIL.
5. Ambiente IIE do. Portal SIGQAR | Sistema Integrado de Gestão de Qualidade do Ar | INEA [Internet]. [citado 25 de agosto de 2025]. Disponível em: <https://portalsigqar.inea.rj.gov.br/>
6. Alegre P, de J. MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO AR REDE AUTOMÁTICA – AR DO SUL ANO DE 2024.
7. Relatorio-de-Qualidade-do-Ar-no-Estado-de-Sao-Paulo-2022.pdf [Internet]. [citado 12 de setembro de 2025]. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/ar/wp-content/uploads/sites/28/2023/07/Relatorio-de-Qualidade-do-Ar-no-Estado-de-Sao-Paulo-2022.pdf?utm_source=chatgpt.com
8. Yu P, Xu R, Li S, Coelho MSZS, Saldiva PHN, Sim MR, et al. Loss of life expectancy from PM2.5 in Brazil: A national study from 2010 to 2018. *Environ Int.* agosto de 2022;166:107350. doi:10.1016/j.envint.2022.107350 PubMed PMID: 35749993.
9. Braga AL, Saldiva PH, Pereira LA, Menezes JJ, Conceição GM, Lin CA, et al. Health effects of air pollution exposure on children and adolescents in São Paulo, Brazil. *Pediatr Pulmonol.* fevereiro de 2001;31(2):106–13. doi:10.1002/1099-0496(200102)31:2%3C106::aid-ppul1017%3E3.0.co;2-m PubMed PMID: 11180685.
10. Della Peruta C, Lozanoska-Ochser B, Renzini A, Moresi V, Sanchez Riera C, Bouché M, et al. Sex Differences in Inflammation and Muscle Wasting in Aging and Disease. *Int J Mol Sci.*

28 de fevereiro de 2023;24(5):4651. doi:10.3390/ijms24054651 PubMed PMID: 36902081; PubMed Central PMCID: PMC10003083.

11. Frontiers | The gender difference in the effects of air pollution on the risk of spinal osteoarthritis in Chinese middle-aged and older adults: a prospective cohort study in China [Internet]. [citado 26 de setembro de 2025]. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/public-health/articles/10.3389/fpubh.2025.1576204/full?utm_source
12. Effects of atmospherically relevant PM2.5 on skeletal muscle mitochondria: a review of damage mechanisms and potential of exercise interventions - PMC [Internet]. [citado 12 de setembro de 2025]. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12174123/?utm_source=chatgpt.com
13. Trevisan C, Gregorio C, Welmer AK, Volpato S, Eneroth K, Bellander T, et al. Air Pollution Exposure and Muscle Mass and Strength Decline in Older Adults: Results From a Swedish Population-Based Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. dezembro de 2025;16(6):e70111. doi:10.1002/jcsm.70111 PubMed PMID: 41261353; PubMed Central PMCID: PMC12629866.
14. Chen CH, Huang LY, Lee KY, Wu CD, Pan SC, Guo YL. Air pollution exposure associated with decline rates in skeletal muscle mass and grip strength and increase rate in body fat in elderly: a 5-year follow-up study. *Environ Health Prev Med*. 30:56. doi:10.1265/ehpm.24-00357 PubMed PMID: 40691072; PubMed Central PMCID: PMC12301075.
15. Wang H, Liu H, Guo F, Li J, Li P, Guan T, et al. Association Between Ambient Fine Particulate Matter and Physical Functioning in Middle-Aged and Older Chinese Adults: A Nationwide Longitudinal Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 5 de maio de 2022;77(5):986–93. doi:10.1093/gerona/glab370 PubMed PMID: 34908113.
16. Health effect of multiple air pollutant mixture on sarcopenia among middle-aged and older adults in China - PubMed [Internet]. [citado 1º de setembro de 2025]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38925034/>
17. Zare Sakhvidi MJ, Lafontaine A, Yang J, Lequy E, Artaud F, Canonico M, et al. Association between Outdoor Air Pollution Exposure and Handgrip Strength: Findings from the French CONSTANCES Study. *Environ Health Perspect*. 13 de maio de 2022;130(5):057701. doi:10.1289/EHP10464 PubMed PMID: 35559615; PubMed Central PMCID: PMC9104871.

18. Park J, Jang J, So B, Lee K, Yeom D, Zhang Z, et al. Effects of Particulate Matter Inhalation during Exercise on Oxidative Stress and Mitochondrial Function in Mouse Skeletal Muscle. *Antioxidants*. 17 de janeiro de 2024;13(1):113. doi:10.3390/antiox13010113 PubMed PMID: 38247536; PubMed Central PMCID: PMC10812725.
19. Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev*. outubro de 2011;91(4):1447–531. doi:10.1152/physrev.00031.2010 PubMed PMID: 22013216.
20. Armstrong RB, Phelps RO. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am J Anat*. novembro de 1984;171(3):259–72. doi:10.1002/aja.1001710303 PubMed PMID: 6517030.
21. Santocildes G, Merino M, Fabiani F, Pagès T, Marotta M, Viscor G, et al. Histomorphological and functional contralateral symmetry in the gastrocnemius muscles of the laboratory rat. *J Anat*. setembro de 2022;241(3):692–701. doi:10.1111/joa.13674 PubMed PMID: 35437750; PubMed Central PMCID: PMC9358741.
22. Kitching M, Ribble A, Wright A, Bhatnagar A, Haberzettl P. Sex differences in the redox response to fine particulate matter (PM2.5) air pollution protects female mice against metabolic and cardiac injury. *Physiol Rep*. setembro de 2025;13(17):e70536. doi:10.14814/phy2.70536 PubMed PMID: 40892707; PubMed Central PMCID: PMC12404245.
23. Liu W, Wang Z, Kim MH, Gu Y, Sim HJ, Lee JC, et al. Exposure of Young Mice to Atmospherically Relevant PM2.5 Has Sex-Dependent Long-Lasting Impacts on the Skeletal Muscle System. *Aging Dis*. 2 de dezembro de 2024;16(6):3690–705. doi:10.14336/AD.2024.1047 PubMed PMID: 39751864; PubMed Central PMCID: PMC12539521.
24. Liao M, Braunstein Z, Rao X. Sex differences in particulate air pollution-related cardiovascular diseases: A review of human and animal evidence. *Sci Total Environ*. 1º de agosto de 2023;884:163803. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.163803 PubMed PMID: 37137360.
25. The New England Journal of Medicine [Internet]. [citado 25 de março de 2026]. The Effect of Air Pollution on Lung Development from 10 to 18 Years of Age | NEJM. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa040610>

26. Li J, Song Y, Shi L, Jiang J, Wan X, Wang Y, et al. Long-term effects of ambient PM_{2.5} constituents on metabolic syndrome in Chinese children and adolescents. *Environ Res.* 1º de março de 2023;220:115238. doi:10.1016/j.envres.2023.115238 PubMed PMID: 36621550.
27. Bové H, Bongaerts E, Slenders E, Bijmens EM, Saenen ND, Gyselaers W, et al. Ambient black carbon particles reach the fetal side of human placenta. *Nat Commun.* 17 de setembro de 2019;10(1):3866. doi:10.1038/s41467-019-11654-3 PubMed PMID: 31530803; PubMed Central PMCID: PMC6748955.
28. Veras MM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, Maciel Ribeiro AAC, Mayhew TM, Saldiva PHN, et al. Particulate urban air pollution affects the functional morphology of mouse placenta. *Biol Reprod.* setembro de 2008;79(3):578–84. doi:10.1095/biolreprod.108.069591 PubMed PMID: 18509159.
29. Veras MM, Damaceno-Rodrigues NR, Guimarães Silva RM, Scoriza JN, Saldiva PHN, Caldini EG, et al. Chronic exposure to fine particulate matter emitted by traffic affects reproductive and fetal outcomes in mice. *Environ Res.* julho de 2009;109(5):536–43. doi:10.1016/j.envres.2009.03.006 PubMed PMID: 19394924.
30. Rider CF, Carlsten C. Air pollution and DNA methylation: effects of exposure in humans. *Clin Epigenetics.* 3 de setembro de 2019;11(1):131. doi:10.1186/s13148-019-0713-2 PubMed PMID: 31481107; PubMed Central PMCID: PMC6724236.
31. Poursafa P, Kamali Z, Fraszczyk E, Boezen HM, Vaez A, Snieder H. DNA methylation: a potential mediator between air pollution and metabolic syndrome. *Clin Epigenetics.* 30 de junho de 2022;14(1):82. doi:10.1186/s13148-022-01301-y
32. Wang Z, Liu W, Sim H, Lee J, Kook S, Kim SH. Effects of Combined Exercise Training on Modulating Fine Particulate Matter–Induced Skeletal Muscle Damage in Offspring Gestationally Exposed. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 10 de setembro de 2025;16(5):e70047. doi:10.1002/jcsm.70047 PubMed PMID: 40927995; PubMed Central PMCID: PMC12421413.
33. Brook RD, Newby DE, Rajagopalan S. Air Pollution and Cardiometabolic Disease: An Update and Call for Clinical Trials. *Am J Hypertens.* 8 de dezembro de 2017;31(1):1–10. doi:10.1093/ajh/hpx109 PubMed PMID: 28655143; PubMed Central PMCID: PMC5861586.

34. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. *J Dev Orig Health Dis.* fevereiro de 2010;1(1):6–18. doi:10.1017/S2040174409990171 PubMed PMID: 25142928.
35. Giles LV, Koehle MS. The health effects of exercising in air pollution. *Sports Med.* fevereiro de 2014;44(2):223–49. doi:10.1007/s40279-013-0108-z PubMed PMID: 24174304.
36. Wang X, Karvonen-Gutierrez CA, Gold EB, Derby C, Greendale G, Wu X, et al. Longitudinal Associations of Air Pollution With Body Size and Composition in Midlife Women: The Study of Women's Health Across the Nation. *Diabetes Care.* 1º de novembro de 2022;45(11):2577–84. doi:10.2337/dc22-0963 PubMed PMID: 36084038; PubMed Central PMCID: PMC9679268.
37. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association - PubMed [Internet]. [citado 31 de março de 2026]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20458016/>
38. Pope CA, Dockery DW. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *J Air Waste Manag Assoc* 1995. junho de 2006;56(6):709–42. doi:10.1080/10473289.2006.10464485 PubMed PMID: 16805397.
39. Powers SK, Goldstein E, Schrager M, Ji LL. Exercise Training and Skeletal Muscle Antioxidant Enzymes: An Update. *Antioxidants.* janeiro de 2023;12(1):39. doi:10.3390/antiox12010039
40. Sun Q, Yue P, Deiuliis JA, Lumeng CN, Kampfrath T, Mikolaj MB, et al. Ambient air pollution exaggerates adipose inflammation and insulin resistance in a mouse model of diet-induced obesity. *Circulation.* 3 de fevereiro de 2009;119(4):538–46. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.799015 PubMed PMID: 19153269; PubMed Central PMCID: PMC3845676.
41. Ji LL, Kang C, Zhang Y. Exercise-induced hormesis and skeletal muscle health. *Free Radic Biol Med.* setembro de 2016;98:113–22. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.025 PubMed PMID: 26916558.
42. Kelly FJ, Fussell JC. Air pollution and public health: emerging hazards and improved understanding of risk. *Environ Geochem Health.* agosto de 2015;37(4):631–49.

doi:10.1007/s10653-015-9720-1 PubMed PMID: 26040976; PubMed Central PMCID: PMC4516868.

43. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 1º de janeiro de 2019;48(1):16–31. doi:10.1093/ageing/afy169 PubMed PMID: 30312372; PubMed Central PMCID: PMC6322506.
44. Ansdell P, Thomas K, Hicks KM, Hunter SK, Howatson G, Goodall S. Physiological sex differences affect the integrative response to exercise: acute and chronic implications. *Exp Physiol*. dezembro de 2020;105(12):2007–21. doi:10.1113/EP088548 PubMed PMID: 33002256.
45. Holcomb LE, Rowe P, O'Neill CC, DeWitt EA, Kolwicz SC. Sex differences in endurance exercise capacity and skeletal muscle lipid metabolism in mice. *Physiol Rep*. 8 de fevereiro de 2022;10(3):e15174. doi:10.14814/phy2.15174 PubMed PMID: 35133078; PubMed Central PMCID: PMC8822869.
46. Devries MC. Sex-based differences in endurance exercise muscle metabolism: impact on exercise and nutritional strategies to optimize health and performance in women. *Exp Physiol*. fevereiro de 2016;101(2):243–9. doi:10.1113/EP085369 PubMed PMID: 26459076.
47. Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1 α , Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxid Med Cell Longev*. 9 de março de 2020;2020:1452696. doi:10.1155/2020/1452696 PubMed PMID: 32215168; PubMed Central PMCID: PMC7085407.
48. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats - PubMed [Internet]. [citado 31 de março de 2026]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18078520/>
49. Farah D, Nunes J, Sartori M, Dias D da S, Sirvente R, Silva MB, et al. Exercise Training Prevents Cardiovascular Derangements Induced by Fructose Overload in Developing Rats. *PLOS ONE*. 8 de dezembro de 2016;11(12):e0167291. doi:10.1371/journal.pone.0167291
50. Irigoyen MC, Paulini J, Flores LJF, Flues K, Bertagnolli M, Moreira ED, et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized

- rats. Hypertension. outubro de 2005;46(4):998–1003. doi:10.1161/01.HYP.0000176238.90688.6b PubMed PMID: 16157791.
51. Llesuy SF, Milei J, Molina H, Boveris A, Milei S. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. *Tumori*. 30 de junho de 1985;71(3):241–9. doi:10.1177/030089168507100305 PubMed PMID: 3861023.
 52. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302–10. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6 PubMed PMID: 672633.
 53. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol*. 1994;233:357–63. doi:10.1016/s0076-6879(94)33041-7 PubMed PMID: 8015470.
 54. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem*. março de 1969;27(3):502–22. doi:10.1016/0003-2697(69)90064-5 PubMed PMID: 4388022.
 55. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods*. 1980;38(1–2):161–70. doi:10.1016/0022-1759(80)90340-3 PubMed PMID: 6778929.
 56. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1999;299:15–27. doi:10.1016/s0076-6879(99)99005-5 PubMed PMID: 9916193.
 57. Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. 1984;105:114–21. doi:10.1016/s0076-6879(84)05015-1 PubMed PMID: 6727659.
 58. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*. 16 de setembro de 1974;47(3):469–74. doi:10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x PubMed PMID: 4215654.
 59. Granger DL, Anstey NM, Miller WC, Weinberg JB. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods Enzymol*. 1999;301:49–61. doi:10.1016/s0076-6879(99)01068-x PubMed PMID: 9919553.

60. Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol.* dezembro de 1978;45(6):1009–15. doi:10.1152/jappl.1978.45.6.1009 PubMed PMID: 730582.
61. Liu X, Li Y, Li F, Yang W, Ji W, Chen N, et al. Exposure to air pollution, genetic susceptibility, and prevalence of sarcopenia in the UK. *Ecotoxicol Environ Saf.* 15 de outubro de 2024;285:117143. doi:10.1016/j.ecoenv.2024.117143 PubMed PMID: 39369663.
62. Guttridge DC. Signaling pathways weigh in on decisions to make or break skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* julho de 2004;7(4):443–50. doi:10.1097/01.mco.0000134364.61406.26 PubMed PMID: 15192448.
63. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol.* 15 de outubro de 2001;536(Pt 2):329–37. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0329c.xd PubMed PMID: 11600669; PubMed Central PMCID: PMC2278876.
64. Muñoz-Cánoves P, Scheele C, Pedersen BK, Serrano AL. Interleukin-6 myokine signaling in skeletal muscle: a double-edged sword? *FEBS J.* setembro de 2013;280(17):4131–48. doi:10.1111/febs.12338 PubMed PMID: 23663276; PubMed Central PMCID: PMC4163639.
65. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol.* março de 2010;10(3):170–81. doi:10.1038/nri2711 PubMed PMID: 20154735.
66. Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. *Essays Biochem.* 2006;42:105–17. doi:10.1042/bse0420105 PubMed PMID: 17144883.
67. POWERS SK, JACKSON MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev.* outubro de 2008;88(4):1243–76. doi:10.1152/physrev.00031.2007 PubMed PMID: 18923182; PubMed Central PMCID: PMC2909187.
68. Tylutka A, Walas Ł, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol.* 1º de março de 2024;15. doi:10.3389/fimmu.2024.1330386

69. Pang X, Zhang P, Chen X, Liu W. Ubiquitin-proteasome pathway in skeletal muscle atrophy. *Front Physiol.* 2023;14:1289537. doi:10.3389/fphys.2023.1289537 PubMed PMID: 38046952; PubMed Central PMCID: PMC10690626.
70. Barker DJP. Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health.* fevereiro de 2004;58(2):114–5. doi:10.1136/jech.58.2.114 PubMed PMID: 14729887; PubMed Central PMCID: PMC1732687.
71. Ferreira MJ, Shimojo GL, Stoyell-Conti FF, Barboza C, Sartori M, Sanches IC, Irigoyen MC, De Angelis K. Sex-specific adaptations to exercise training: Focus on autonomic modulation and oxidative stress in normotensive rats. *Physiol Rep.* 2025 Dec;13(23):e70685. doi: 10.14814/phy2.70685. PMID: 41332168; PMCID: PMC12672923.
72. Silva G do C, Ferreira MJ, Araujo AA, Nascimento Filho AV do, Bernardes N, do Amaral JB, et al. Cardiovascular and neuroimmune adaptations to enalapril and exercise training: A comparative study in male and ovariectomized female spontaneously hypertensive rats. *Auton Neurosci Basic Clin.* agosto de 2025;260:103280. doi:10.1016/j.autneu.2025.103280 PubMed PMID: 40253895.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da atividade física nas alterações cardiovasculares e neuroimunes da prole de animais expostos a poluição do ar", protocolada sob o CEUA nº 3141120421 (ID 000245), sob a responsabilidade de **Profª. Dra. Kátia de Angelis** e equipe; *Marina Rascio Henriques Dutra; Danielle da Silva Dias; Sarah Cristina Ferreira Freitas ; Tânia Plens Shecaira; Maria Claudia Costa Irigoyen; Mariana Matera Veras* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 14/04/2021.

We certify that the proposal "Effects of physical activity on cardiovascular and neuroimmune changes in the offspring of animals exposed to air pollution", utilizing 9 Heterogenics rats (3 males and 6 females), 9 Isogenic rats (3 males and 6 females), protocol number CEUA 3141120421 (ID 000245), under the responsibility of **Profª. Dra. Kátia de Angelis** and team; *Marina Rascio Henriques Dutra; Danielle da Silva Dias; Sarah Cristina Ferreira Freitas ; Tânia Plens Shecaira; Maria Claudia Costa Irigoyen; Mariana Matera Veras* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Nove de Julho University (CEUA/UNINOVE) in the meeting of 04/14/2021.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **05/2021** a **03/2023**

Área: **Medicina**

Origem:	Biotério - Unidade Vergueiro		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Machos	idade: 20 a 21 dias N: 3
Linhagem:	Wistar		Peso: 30 a 50 g
Origem:	Biotério - Unidade Vergueiro		
Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo: Fêmeas	idade: 20 a 21 dias N: 6
Linhagem:	Wistar		Peso: 30 a 50 g
Origem:	Biotério - Unidade Vergueiro		
Espécie:	Ratos isogênicos	sexo: Machos	idade: 20 a 21 dias N: 3
Linhagem:	SHR		Peso: 30 a 50 g
Origem:	Biotério - Unidade Vergueiro		
Espécie:	Ratos isogênicos	sexo: Fêmeas	idade: 20 a 21 dias N: 6
Linhagem:	SHR		Peso: 30 a 50 g

Local do experimento: Faculdade de Medicina da USP (FMUSP), até o período de lactação da prole. Após o desmame a prole será mantida no biotério da UNINOVE. -Localização: FMUSP: Av. Dr. Arnaldo, 455 - Cerqueira César, São Paulo - SP, 01246-903. UNIFESP: Rua Botucatu, 862 - Edifício de Ciências Biomédicas, 5ª andar, São Paulo □ SP, 04023-062.

São Paulo, 14 de abril de 2021



Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho



Profa. Dra. Stella Regina Zamuner
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho