



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA



CENTRO DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DA GORDURA DO LEITE DE CABRA SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, MARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO E COMPORTAMENTO DE RATOS EXERCITADOS

JOÃO PESSOA – PB

2018

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DA GORDURA DO LEITE DE CABRA SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, MARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO E COMPORTAMENTO DE RATOS EXERCITADOS

JOÃO PESSOA – PB

2018

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

EFEITO DA GORDURA DO LEITE DE CABRA SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, MARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO E COMPORTAMENTO DE RATOS EXERCITADOS

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências e
Tecnologia dos Alimentos da
Universidade Federal da Paraíba,
para obtenção do título de Doutor
em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos.

Orientadora: Juliana Késsia Barbosa Soares

Co-Orientadora: Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga

JOÃO PESSOA – PB

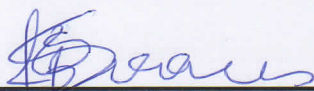
2018

MAYARA QUEIROGA BARBOSA

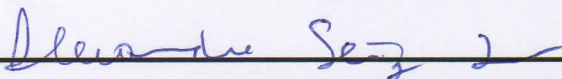
EFEITO DA GORDURA DO LEITE DE CABRA SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS,
MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E COMPORTAMENTO DE RATOS
EXERCITADOS

Tese Aprovada em 03 / 02 / 2018

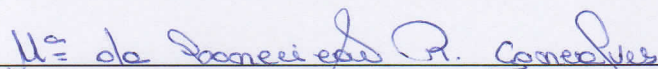
BANCA EXAMINADORA



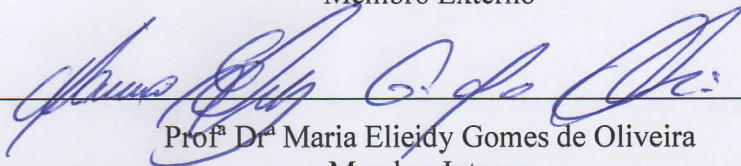
Profª Drª Juliana Késsia Barbosa Soares
Coordenadora da Banca



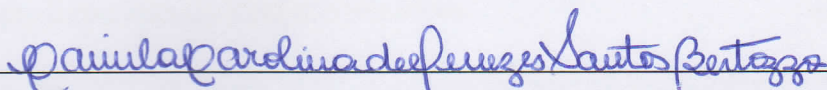
Profº Dr. Alexandre Sergio Silva
Membro Externo



Profª Drª Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves
Membro Externo



Profª Drª Maria Elieidy Gomes de Oliveira
Membro Interno



Profª Drª Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo
Membro Externo

DEUS, pelo seu imensurável amor

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu infinito amor, por ser presença viva todos os dias na minha vida, me fortalecendo diante dos obstáculos, me oferecendo a paz e a tranquilidade para execução de todas as minhas atividades diárias;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, a todos os professores que o compõem e, a Lindalva e Fernanda, por todo apoio e dedicação.

A Prof^a. Dr^a. Juliana Soares, pela excelente orientação, pela oportunidade de realização desse trabalho, confiança, por todo o conhecimento repassado e por todo carinho e amizade. Obrigada.

A Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Queiroga, pela co-orientação, correções e principalmente pelo apoio e disponibilidade em viabilizar parcerias para execução desta tese; por nos oferecer força e tranquilidade com suas palavras. Obrigada.

Aos professores colaboradores, Prof^a. Dr^a. Gerlane Guerra, Prof^a. Dr^a. Daline Fernandes, Prof. Dr. Rui Bessa, Prof^a. Dr^a. Susana Alves, pela disponibilização dos Laboratório para execução das análises e pelas contribuições nas correções dos artigos.

Aos meus pais (Antonio e Maria) e minha irmã (Mariana), por serem exemplos de vida, superação e dedicação, pela educação que me ofereceram, por acreditarem no meu potencial, por compreender minha ausência, por serem tão presentes.

Ao meu esposo, Gustavo Ravy e sua família, pelo companheirismo, pelas palavras de acalento e de força, por me acompanhar em todos os momentos, por acreditar na minha capacidade, por compreender minha ausência. Te amo!

Aos alunos Iara, Iohrana, Jaieleisson, Suedna, Sebastião, Ana Cristina e Ianna pela disposição em me auxiliar na execução de todos os procedimentos experimentais no Laboratório de Nutrição Experimental. Gratidão por todos.

A Jaciel, por toda ajuda nas atividades desenvolvidas no Laboratório de Nutrição Experimental. Grata.

Aos professores Membros da banca, Alexandre Sergio, Camila Carolina, Maria Conceição e Maria Elieidy, pelas suas honrosas contribuições nas correções e sugestões, fundamentais para

conclusão deste trabalho. Em especial, Camila e Elieidy, pelas palavras de apoio e orientações desde o início da pesquisa. Muito obrigada!

Aos meus tios (Gerônimo, Fátima, Isabel e Ruy), por me acolherem como filha, por acreditarem no meu potencial, serem exemplo de superação, de vida, e de sucesso profissional. Obrigada por serem tão presentes na minha construção pessoal e profissional.

Aos amigos/irmãos Quênia, André, Camila, Bruno, Alexandre e Juliana, pela amizade, pelas orações, por fazer parte de minha família de forma tão construtiva, fiel e alegre.

Aos colegas de trabalho e amigos do Curso de Nutrição (Marília, Melly, Janaína, Carol, Rafaela, Jefferson, Heloisa, Ana Paula) da Universidade Federal de Campina Grande, por todo apoio e incentivo.

Aos amigos Mayana, Mussara, Fernanda, Bárbara, Edilza e Edilza pelas palavras de incentivo e pela amizade.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O leite de cabra é um alimento com potencial efeito funcional por sua rica composição de nutrientes. Entre eles, os ácidos graxos de cadeia média (MCFAs) e ácido linoleico conjugado (CLA), que tem mostrado efeitos no aumento de massa magra e modulação no padrão bioquímico e do estresse oxidativo. Objetivou-se avaliar os efeitos do consumo de dietas com gordura de leite de cabra associado ao treinamento físico sobre modificações físicas, parâmetros bioquímicos, marcadores de estresse oxidativo e parâmetros comportamentais de ratos exercitados. Ratos machos (70 dias de vida) foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos (n=10): controle sedentário (CON) e exercitado (CON-EX); gordura de leite de cabra sedentário (GM) e exercitado (GM-EX); gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA sedentário (GM-CLA) e exercitado (GM-CLA-EX). Foram avaliados: o peso corporal, glicemia, perfil lipídico plasmático, composição corporal, marcadores de estresse oxidativo (malonaldeído - MDA e glutathiona - GSH) no músculo e cérebro e, parâmetros comportamentais de ansiedade nos testes do Campo Aberto e Labirinto em Cruz Elevado. Em relação aos parâmetros comportamentais, o GM-CLA-EX apresentou maior *rearing* em comparação ao GM-CLA. O *grooming* foi maior no GM-EX em comparação aos demais grupos ($p < 0,05$). A frequência das entradas e o tempo de permanência nos braços abertos foram maiores nos grupos sedentários CON, GM, GM-CLA, em relação aos grupos exercitados ($p < 0,05$). Porém, o tempo gasto nos braços abertos e área central foram significativamente maiores no GM, em comparação com CON e GM-CLA ($p < 0,05$). Os níveis de MDA no cérebro foram menores em GM em comparação com CON ($p < 0,05$), porém observou-se aumento no CON-EX, em relação aos grupos CON, GM-EX e GM-CLA-EX. Os grupos sedentários e exercitados que consumiram gorduras de leite de cabra apresentaram elevados níveis de GSH no cérebro, em relação aos grupos controles ($p < 0,05$). O peso corporal foi menor nos grupos alimentados com gordura de leite de cabra, mas o GM-EX apresentou menor ganho de peso ($p < 0,05$), indicando que o teor de CLA não influenciou no menor ganho de peso. As gorduras mesentérica, retroperitoneal e percentual de gordura da carcaça diminuíram em GM-EX e GM-CLA-EX ($p < 0,05$). A glicemia foi maior nos grupos GM e GM-CLA, porém nos grupos GM-EX e GM-CLA-EX, os níveis foram menores ($p < 0,05$). O colesterol HDL no GM-EX foi maior do que GM ($p < 0,05$). No músculo, os níveis de MDA foram maiores nos sedentários GM e GM-CLA, comparado ao CON ($p < 0,05$) e, o GM-EX apresentou resultados superiores a todos os grupos analisados ($p < 0,05$). Os níveis de GSH foram maiores nos grupos GM e GM-EX, comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). Estes resultados indicam

que os efeitos da dieta com a gordura de leite de cabra associado ao treinamento físico promoveram efeitos benéficos como, redução do ganho de peso corporal, repercutindo na redução do tecido adiposo corporal, na redução dos fatores de riscos para aterosclerose e induziu o aumento da glutathione no músculo. Porém, a redução dos níveis de MDA e o aumento de GSH no cérebro, foram associados com a diminuição do comportamento de ansiedade, somente nos grupos sedentários alimentados com gordura de leite de cabra. O treinamento físico, promoveu aumento do comportamento de ansiedade e o teor de CLA nas dietas não interferiu nestes resultados.

Palavras-chaves: lípidos; lipoproteínas plasmáticas; composição corporal; estresse oxidativo; ansiedade.

ABSTRACT

Goat's milk is a food with a potential functional effect because of its rich nutrient composition. Among them, medium chain fatty acids (MCFAs) and conjugated linoleic acid (CLA), which have shown effects on the increase of lean mass and modulation in the biochemical pattern and oxidative stress. The objective of this study was to evaluate the effects of diets with goat's milk fat associated with physical training on physical changes, biochemical parameters, oxidative stress markers and behavioral parameters of exercised rats. Male rats (70 days of life) were randomly assigned to six groups (n = 10): sedentary (CON) and exercise (CON-EX); sedentary (GM) and exercised goat's milk fat (GM-EX); goat's milk fat with increased levels of sedentary CLA (GM-CLA) and exercised (GM-CLA-EX). Body weight, blood glucose, plasma lipid profile, body composition, markers of oxidative stress (MDA and glutathione - GSH) in the muscle and brain, and behavioral anxiety parameters in the Open Field and Maze Elevated tests were evaluated. Regarding the behavioral parameters, GM-CLA-EX presented higher rearing compared to GM-CLA. Grooming was higher in GM-EX compared to the other groups ($p < 0.05$). The frequency of the entries and the time of stay in the open arms were higher in the sedentary groups CON, GM, GM-CLA, in relation to the groups exercised ($p < 0.05$). However, the time spent in the open arms and central area were significantly higher in GM, compared to CON and GM-CLA ($p < 0.05$). MDA levels in the brain were lower in GM compared to CON ($p < 0.05$), but an increase in CON-EX was observed in relation to CON, GM-EX and GM-CLA-EX groups. The sedentary and exercised groups that consumed goat's milk fats showed high levels of GSH in the brain, in relation to the control groups ($p < 0.05$). Body weight was lower in the groups fed goat's milk fat, but the GM-EX presented lower weight gain ($p < 0.05$), indicating that the CLA content did not influence the lower weight gain. The mesenteric, retroperitoneal and carcass fat percentages decreased in GM-EX and GM-CLA-EX ($p < 0.05$). The glycemia was higher in the GM and GM-CLA groups, but in the GM-EX and GM-CLA-EX groups, the levels were lower ($p < 0.05$). HDL cholesterol in GM-EX was higher than GM ($p < 0.05$). In the muscle, MDA levels were higher in sedentary GM and GM-CLA, compared to CON ($p < 0.05$), and GM-EX presented higher results in all groups analyzed ($p < 0.05$). GSH levels were higher in the GM and EX-groups, compared to the other groups ($p < 0.05$). These results indicate that the effects of diet with goat milk fat associated with physical training promoted beneficial effects, such as reduction of body weight gain, repercussions on reduction of body fat, reduction of risk factors for atherosclerosis, and induced increased glutathione in the muscle. However, the reduction of MDA levels and the increase of GSH in the brain were

associated with decreased anxiety behavior only in the sedentary groups fed with goat's milk fat. The physical training promoted an increase in anxiety behavior and the CLA content in the diets did not interfere in these results.

Key-words: lipids; plasma lipoproteins; body composition; oxidative stress; anxiety;

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Caminho da síntese ruminal do ácido rumênico em vacas leiteiras.....	23
Figura 2:	Mecanismos proposto pelo qual o ácido linoleico conjugado trans-10, cis-12 (CLA) diminui a acumulação de triglicerídeos (TG) na diferenciação de pré-adipócitos.....	25
Figura 3:	Efeitos integrados do exercício (agudo e extenuante, crônico e regular), antioxidantes na dieta e suplementação de antioxidante exógena sobre o estado de estresse oxidativo e saúde. Os efeitos benéficos são representados pela linha contínua, enquanto com linha tracejada são mostrados os efeitos prejudiciais.....	34
Figura 4:	Esquema representativo da peroxidação lipídica, enfocando os principais produtos secundários formados durante o processo.....	37
Figura 5:	Mecanismo de conversão da GSH em GSSG.....	39
Figura 6:	Esteira rolante – LANEX.....	44
Figura 7:	Campo Aberto – LANEX.....	46
Figura 8:	Labirinto em Cruz Elevado – LANEX.....	46
ARTIGO I		
Figure 1:	Behavioral test using Open Field.	82
Figure 2:	Behavioral test Elevated Plus Maze (EPM).	83
Figure 3:	MDA and GSH levels in the brains of rats treated with goat milk lipids.....	84
ARTIGO II		
Figure 1:	Weekly food intake of the experimental groups.....	107
Figura 2:	Body weight of the experimental groups.....	108
Figura 3:	Weekly weight gain of the experimental groups.....	109
Figura 4:	MDA and GSH muscular levels of the experimental groups.....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Resumo de estudos usando ácido linoleico conjugado (CLA) e treinamento físico em animais.....	27
Tabela 2:	Resumo de estudos usando ácido linoleico conjugado (CLA) e treinamento físico em humanos.....	29
Tabela 3:	Composição das dietas experimentais.....	43
Tabela 4:	Protocolo de Treinamento.....	44
ARTIGO I		
Tabela 1:	Fatty acid profile of the different fat sources (%).....	75
Tabela 2:	Composition of experimental diets.....	77

Tabela 3:	Aerobic Training Protocol.....	78
ARTIGO II		
Tabela 1:	Fatty acid profile of the different fat sources (%).....	75
Tabela 2:	Murinometric parameters and body composition of rats treated with goat's milk fat submitted or not submitted to aerobic physical exercise.....	112
Tabela 3:	Biochemical parameters of rats treated with goat's milk fat submitted or not submitted to physical aerobic exercise.....	115

LISTA DE ABRVIATURAS E SIGLAS

ACC:	Acetil-coa carboxilase
ACSM:	American College of Sports Medicine
AD:	Doença de Alzheimer
AGCM:	Ácidos graxos saturados de cadeia média
AGPI:	Ácidos graxos polinsaturados
AIN:	Instituto Americano de Nutrição
ATP:	Adenosina trifosfato
ACBP:	Proteína de ligação acil-coa

BDNF:	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CEUA:	Comitê de Ética Animal
CIISA:	Centro de Pesquisa Interdisciplinar em Saúde Animal
CLA:	Ácido linoleico conjugado
CON:	Grupo controle
CON-EX:	Grupo controle exercitado
CTP:	Carnitina palmitoil-transferase
CPT-1:	Carnitina palmitoil-transferase-1
CSTR:	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
CA:	Circunferência abdominal
CT:	Colesterol total
DHA:	Ácido docosahexaenoico
EMBRAPA:	Empresa Brasileira de Pesquisa Agrícola
EPA:	Ácido eicosapentaenoico
EROS:	Espécies reativas de oxigênio
FMC:	Faculdade de Medicina Veterinária
GDNF:	Fator neurotrófico derivado da glia
GLUT4:	Transportador de glicose
GM:	Grupo gordura de leite de cabra sedentário
GM-EX:	Grupo gordura de leite de cabra exercitado
GM-CLA:	Grupo gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA sedentário
GM-CLA-EX:	Grupo gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA exercitado
GSH:	Glutationa
GSSG:	Glutationa reduzida
GPx:	Glutationa peroxidase
HHTg:	Hipertrigliceridemia hereditária
HDL-c:	Lipoproteína de alta densidade
H2O2:	Peróxido de hidrogênio
IBGE:	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC:	Índice de Massa Corporal
LANEX:	Laboratório de Nutrição Experimental
LABROM:	Laboratório de Bromatologia
LPL:	Lipoproteína lipase

LDL-c:	Lipoproteínas de baixa densidade
LCE:	Labirinto em Cruz Elevado
MCFAs:	Ácidos Graxos saturados de cadeia média
MDA:	Malondialdeído
mTOR:	Mammalian Target of Rapamycin
PPARα:	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
PPARγ:	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
SFAs:	Ácidos graxos saturados
SCD-1:	Enzima esteariol-coa dessaturase 1
TG:	Triglicerídeos
TFX:	Fator de transcrição X
TT:	Circunferência torácica
TNF-α:	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UCPs:	Receptores de proteínas desacopladoras
ULISBOA:	Universidade de Lisboa
UFCG:	Universidade Federal de Campina Grande
UFRN:	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
UFPB:	Universidade Federal da Paraíba
WHO:	World health organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1 LEITE DE CABRA.....	21
2.2 ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO.....	22
2.2.1 Propriedades funcionais do Ácido Linoléico Conjugado.....	24
2.3 ATIVIDADE FÍSICA vs EXERCÍCIO FÍSICO.....	31
2.4 EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL	33

2.5 ESTRESSE OXIDATIVO E VULNERABILIDADE CEREBRAL.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1 CARACTERIZAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA.....	41
3.2 ASPECTOS BIOÉTICOS.....	41
3.3 MATERIAL.....	41
3.4 IDENTIFICAÇÕES DOS ÁCIDOS GRAXOS E ISÔMEROS DO CLA DA GORDURA DE LEITE DE CABRA E TECIDOS.....	41
3.5 ENSAIO BIOLÓGICO.....	42
3.5.1 Animais e dietas experimentais.....	42
3.5.2 Treinamento Físico.....	43
3.6 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR, PESO CORPORAL E GANHO DE PESO CORPORAL SEMANAL.....	45
3.7 TESTES COMPORTAMENTAIS.....	45
3.7.1 Teste do Campo Aberto.....	45
3.7.2 Teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE).....	46
3.8 AVALIAÇÃO MURINOMÉTRICA.....	47
3.9 EUTANÁSIA E PREPARAÇÃO DOS TECIDOS.....	47
3.10 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	47
3.10.1 Adiposidade corporal.....	47
3.10.2 Composição corporal.....	48
3.11 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	48
3.12 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	48
3.12.1 Concentração de Glutathione.....	48
3.12.2 Níveis de Malonaldeído.....	49
3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
4. RESULTADOS.....	69
ARTIGO I: Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of sedentary adults rats.....	71
ARTIGO II: Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when associated with exercise.....	96
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	135
APÊNDICES.....	136

ANEXOS.....	138
--------------------	------------

1 INTRODUÇÃO

Os fatores de risco para doenças crônicas degenerativas, como obesidade, estão associados a uma alimentação desequilibrada e o sedentarismo. Tanto a nutrição adequada como as práticas regulares de exercícios físicos podem contribuir para a prevenção e tratamento dessas doenças (WHO, 2013). Os lipídeos dietéticos podem influenciar na modulação do perfil lipídico plasmático, prevenindo ou favorecendo o desenvolvimento de dislipidemias e aterosclerose (SACKS et al., 2017), como também, tem sido investigado no tratamento de doenças mentais como ansiedade, depressão e bipolaridade (AMMINGE et al., 2016; WANG; MITCHELL, 2016).

O leite de cabra é considerado um alimento com potencial efeito funcional por

sua rica composição de nutrientes importantes para saúde, com presença de peptídeos e ácidos graxos saturados de cadeia média e polinsaturados, que estão relacionados em diversos efeitos terapêuticos (ERIKSEN; VEGARUD; LANGSRUD, 2008; GETANEH et al., 2016). As moléculas de proteínas e lipídeos possuem estruturas que facilitam a alta biodisponibilidade e capacidade de absorção que contribuem significativamente para os requerimentos nutricionais do homem (GETANEH et al., 2016). O leite de cabra possui excelentes quantidades de ácidos graxos saturados de cadeia média (MCFAs), que tem demonstrado efeito no aumento da saciedade (COLEMAN; QUINN; CLEGG, 2016), na redução do peso e acúmulo de gordura corporal (MUMME; STONEHOUSE, 2015; FERREIRA et al., 2014), prevenção da aterosclerose (ZHANG et al., 2016; KONDREDDY et al., 2016) e diversos efeitos no sistema neuronal (WANG; MITCHELL, 2016). Além dos ácidos graxos saturados, a gordura de leite de cabra possui também ácidos graxos polinsaturados (AGPI), dentre eles, o ácido linoleico conjugado que tem demonstrado potencialidade funcional devido ao efeito na redução de gordura corporal (CASEY et al., 2013).

O CLA se refere a um grupo de ácidos linoléico que é produzido naturalmente através da biohidrogenação e isomeração de ácidos graxos por bactérias presentes no rúmen de animais, como vacas e cabras (BHATACHARYA et al., 2005). São conhecidos pelo menos doze isômeros diferentes, sendo, as formas mais ativas biologicamente os *cis-9*, *trans11* e *trans-10*, *cis12* e (CAMPOS et al., 2007; KENNEDY et al., 2010). No rúmen do animal, o ácido linoléico sofre isomeração na sua ligação *cis-12* transformando-se em *trans-11*, resultando no ácido rumênico (*cis-9*, *trans11*), que pode continuar a via de hidrogenação formando o ácido vacênico (C18:1, *trans 11*) (BAUMAN; LOCK, 2006). Tanto o ácido rumênico como o vacênico são transportados para as glândulas mamárias do animal, podendo assim ser adicionado ao leite (LOCK et al., 2005). Os isômeros do CLA, também podem ser obtidos sob a forma industrial, através da hidrogenação parcial do ácido linoléico ou por tratamentos térmicos, com o objetivo de produzir um composto com máxima atividade biológica e com uma composição química definida (BLANKSON, et al., 2000).

Estudos com animais demonstraram que, a suplementação com CLA comercial isolado ou misto tem mostrado diferentes efeitos nos níveis séricos das frações lipídicas de animais, como redução de triglicerídeos e colesterol total e aumento do colesterol HDL (HERNANDÉZ-DIÁZ et al., 2010; KENEDY et al., 2010). Além dos efeitos moduladores das frações lipídicas, o CLA demonstrou ação antioxidante e anti-inflamatória em em animais (ANDREOLI et al., 2009). Quando a suplementação de CLA sintético foi associado ao treinamento físico melhorou o desempenho físico e potencializou o efeito de perda de gordura corporal em ratos (KIM; KIM;

PARK, 2012) pelo aumento dos marcadores de termogênese (SHEM et al., 2015) e estímulo dos receptores PPAR α (BARONE et al., 2017). Apesar destes efeitos em modelos animais, a Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva categoriza o CLA comercial como um suplemento pouco eficaz para perda de peso (KRENIER et al., 2010), em virtude de que as pesquisas com seres humanos apresentam resultados controversos, em virtude de metodologias questionáveis e pelas diferentes dosagens e proporções dos isômeros CLA (BULUT et al., 2013; JENKINS et al., 2014; TERASAWA et al., 2017). Uma alternativa interessante é o consumo de fontes naturais de CLA, como a gordura do leite de cabra.

A elevação do teor de CLA na gordura do leite de cabra, de forma natural, é possível pela saturação do sistema enzimático com o aumento na quantidade de substrato, por meio da suplementação da dieta com óleos vegetais ou alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, especialmente C18:2 (BONFIM et al., 2011). Além disso, como o perfil lipídico das dietas dos ruminantes podem influenciar a diferentes alterações nos teores dos ácidos graxos do no leite, alguns autores estudam a manipulação da dieta dos animais para a produção de leite com perfil lipídico com modulação nos teores de CLA, ácidos graxos de cadeia média e curta, de maior interesse para a saúde humana (GARCIA et al., 2014; BONFIM et al., 2011).

As investigações sobre os efeitos de fontes alimentares com CLA ainda são escassas, mas indicam resultados promissores. A gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA reduziu a ansiedade na prole de ratas tratadas durante a gestação (SOARES et al., 2013) e induziu mudanças favoráveis nas concentrações das lipoproteínas (RODRIGUES et al., 2014). Em humanos, a ingestão de manteiga naturalmente enriquecida com *cis* 9, *trans* 11 exerceu efeitos imunomoduladores sobre jovens adultos saudáveis, reduzindo a produção de biomarcadores pró-inflamatórios associados com excesso de peso e obesidade (PENEDO et al., 2013). Porém, ainda não foram investigados os efeitos do treinamento físico associado ao consumo de gordura de leite de cabra.

O exercício físico regular também é considerado uma terapia preventiva às doenças com baixo grau de inflamação crônica como arteroesclerose e diabetes mellitus (FUKAO et al., 2010; DUCLOS; VIRALLY; DEJAGER, 2011). Alguns estudos demonstram que o exercício moderado também é capaz de reduzir os danos oxidativos no cérebro e em tecidos periféricos (PARACHIKOVA; NICHOL; COTMAN, 2008; WU et al., 2011) e, quando associado à ingestão AGPI reduziu o comportamento de ansiedade em animais (TEIXEIRA et al., 2008; TEXEIRA et al., 2011). Porém, quando ocorre aumento do estado oxidante e pró-inflamatório, danificam a arquitetura celular normal, inibindo processos normais de sobrevivência celular,

neurogênese e neuroplasticidade, o que desencadeia alterações de ansiedade no comportamento do animal (OLIVEIRA et al., 2007; MOYLAN et al., 2013; SALIN et al., 2010).

Tendo-se em vista os efeitos benéficos do leite de cabra para a saúde humana e, a ausência de estudos investigando os efeitos da gordura de leite de cabra associado ao exercício físico, pesquisas nessa área é uma proposta inovadora e podem contribuir com a expansão da caprinocultura no Nordeste do Brasil e da agroindústria especializada em produtos lácteos. Uma vez que, os governos federal e estadual estão realizando esforços para recuperar e soerguer a economia regional, investindo no setor primário, entre eles o desenvolvimento do caprinocultura apoiado em ações de gerações de tecnologias e capacitação dos pequenos e médios produtores.

Sendo assim, esta pesquisa tem como objetivo avaliar os efeitos da gordura do leite de cabra sobre os parâmetros físicos, bioquímicos, estresse oxidativo e comportamental em ratos exercitados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LEITE DE CABRA

As cabras são importantes produtores de leite em várias partes mundo e contribuem significativamente para a nutrição humana em muitos países em desenvolvimento (GETANEH et al., 2016). Em 2016, a produção mundial de leite de cabra 15,510,411 tonéis por ano, sendo a Ásia o maior produtor mundial, com 7 milhoes de toneis por ano e o Brasil com produção de 143 mil toneis (FAO, 2017). No Brasil, o rebanho caprino atingiu 9,61 milhões de cabeças, contando com apenas 1,9% do plantel nacional, e o Nordeste detém 92,7% do total da espécie no País (IBGE, 2015). A produção de leite caprino no Brasil foi de 35.740.188 litros/ano, em média 97.918 litros/dia, onde 67% da produção total anual é oriunda da agricultura familiar. Os maiores produtores de leite de cabra no Nordeste são a Bahia com produção de 11.910.578

milhões, seguido da Paraíba com produção de 4.435.756 milhões de litros de leite (IBGE, 2012).

A consolidação da caprinocultura como atividade rentável vem aumentando em função de vários aspectos. Primeiro, a não necessidade de grandes investimentos e/ou grandes áreas para seu desenvolvimento, favorecendo a geração de emprego e renda no campo, principalmente, pelo fortalecimento da agricultura familiar. Além disso, os caprinos são fonte de carne e leite para população de áreas rurais, representando, em certas regiões, parte importante do consumo doméstico de proteína. Outro aspecto, é a preocupação das pessoas com a saúde e a crescente procura por alimentos nutritivos, saudáveis e funcionais (HAENLEIN, 2004). Conhecer as bacias leiteiras da caprinocultura e identificar unidades produtivas de referência é de fundamental importância para o planejamento de estratégias de ação e desenvolvimento mais condizentes com a região, não só visando técnicas para aumentar a produção local, mas também para planejar melhor o escoamento da produção.

O leite de cabra é composto por diferentes nutrientes que são importantes para o crescimento e desenvolvimento de crianças e manutenção da saúde de adultos. Entre os nutrientes presentes no leite de cabra, destacam-se as gorduras, proteínas, lactose, vitaminas, enzimas e sais minerais (GETANEH et al., 2016), sendo considerado uma alternativa para os consumidores que são alérgicos à proteína do leite de vaca.

A hipoalergenicidade do leite de cabra em comparação com o leite bovino refere-se à ausência ou níveis baixos de α s1-caseína (α s1-cn), que possui baixo potencial alergênico (OLALLA et al., 2009). A presença de proteínas de alto valor biológico, aminoácidos essenciais (treonina, isoleucina, valina, lisina, cisteína, tirosina), biopetídeos bioativos, ácidos graxos saturados de cadeia média e o ácido linoléico conjugado (CLA) (HAENLEIN, 2004), torna-o um alimento com capacidade funcional de realizar atividades biológicas específicas (PARK; PARIZA, 2007).

Os alimentos funcionais são essenciais para a saúde e ajudam a reduzir o risco de desenvolver várias doenças crônicas. Esta propriedade funcional diz respeito ao papel metabólico ou fisiológico desempenhado pelo nutriente (ou não nutriente) no crescimento, desenvolvimento, maturidade e outras funções normais do organismo humano (LEHNEN et al, 2015). Neste sentido, devido a melhor digestibilidade e qualidade de ácidos graxos presente na gordura do leite de cabra, torna-se o produto com potencial para o mercado. O teor médio de gordura total no leite é semelhante ao encontrado em outras espécies de ruminantes, variando entre 3,0 e 6,0 % (GETANEH et al., 2016). Porém, segundo Jenness (1980), o leite de cabra possui excelentes quantidades de ácidos graxos de cadeia curta e média, dentre eles, o ácido

butírico (C:4); ácidos de cadeia média: o capróico (C:6), caprílico (C:8), cáprico (C:10) e láurico (C:12); e também saturados de cadeia longa como mirístico (C14: 0) e palmítico (C16: 0). Entre os polinsaturados e monoinsaturados, destacam-se o linoléico (C18: 2), e o ácido oleico (C18: 1). O leite caprino contém maior proporção de ácidos graxos de cadeia curta e média (57%) comparado ao leite de vaca (50%), como o ácido graxo C10:0 (ácido cáprico) apresentando maior diferença entre eles.

Os ácidos graxos saturados de cadeia média têm sido utilizados no tratamento de vários distúrbios clínicos, incluindo má absorção gastrointestinal, insuficiência pancreática exócrina, dislipidemia (LI et al., 2015), regulação do crescimento celular (PARODI, 2003) e depressão (SHINOHAR et al., 2013). Estes efeitos estão relacionados a sua capacidade metabólica única de fornecer energia direta, em vez de serem depositados em tecidos adiposos. O menor número de carbonos na cadeia destes ácidos permite atravessar rapidamente a membrana mitocondrial, sendo imediatamente utilizados para o fornecimento de energia via β -oxidação (BINDA; WADHWA, 1993), um mecanismo importante para o tratamento de desnutrição.

Além dos ácidos graxos saturados, a gordura de leite do cabra possui também ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), dentre eles, o ácido linoleico conjugado que tem demonstrado potencialidade funcional, devido ao efeito na redução de gordura corporal (CASEY et al., 2013).

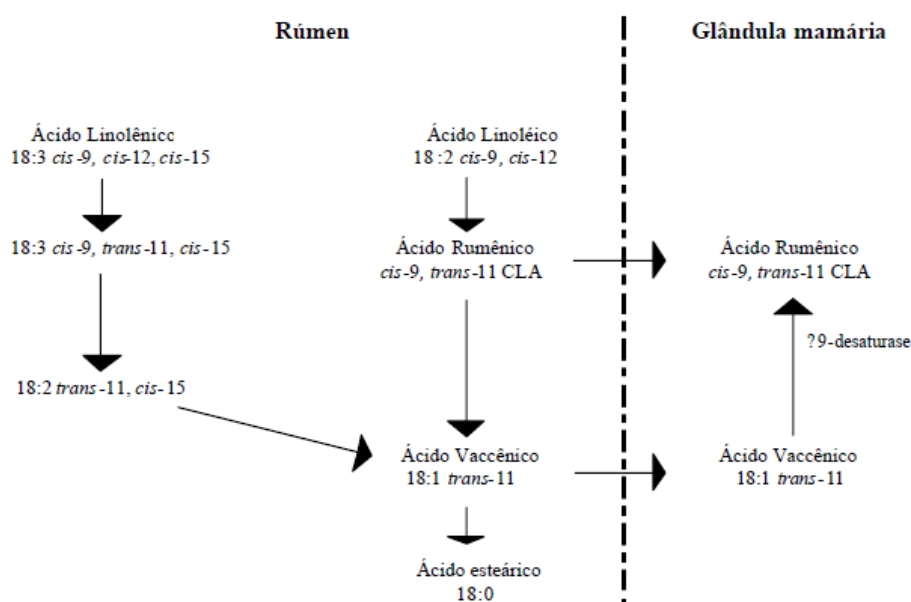
2.2 ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um termo utilizado para se referir a um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido octadecadienóico, produzido naturalmente através da biohidrogenação e isomeração de ácidos graxos por bactérias presentes no rúmen de diferentes animais, tais como vacas e cabras, sendo suas principais fontes naturais os produtos cárneos e lácteos oriundos desses animais. São conhecidos, pelo menos, doze isômeros diferentes, sendo, as formas mais ativas biologicamente os *cis-9*, *trans-11* e *trans-11*, *cis-12* (CAMPOS, 2007; KENNEDY et al., 2010).

No rúmen do animal, o ácido linoléico sofre isomeração na sua ligação *cis-12* transformando-se em *trans-11*, resultando no ácido rumênico (*cis-9*, *trans-11*), que pode continuar a via de hidrogenação, formando o ácido vacênico (*trans-11*). A enzima Δ^9 -desaturase, presente no intestino e na glândula mamária, atua sobre o ácido graxo vacênico (C18:1 *trans-11*), formando o isômero do CLA, o C18:2 *cis-9*, *trans-11*. Tanto o ácido rumênico como o vacênico são transportados para as glândulas mamárias do animal, podendo, assim, ser adicionado ao leite (LOCK et al., 2005).

A figura 1 mostra o esquema de biohidrogenação no rúmen do animal, como descrito acima, além de expor a via do ácido linoléico.

Figura 1: Caminho da síntese ruminal do ácido rumênico em vacas leiteiras. A biohidrogenação do ácido linoleico e linolênico é mostrada no rúmen, e na glândula mamária é observada a ação da Δ^9 -desaturase. Fonte: Adaptado de Bauman e Lock (2006).



A elevação de CLA na gordura do leite de ruminantes é possível pela saturação do sistema enzimático com o aumento na quantidade de substrato, por meio da suplementação da dieta com óleos vegetais ou alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, especialmente, C18:2. Esta saturação resulta em um acúmulo de intermediários, o CLA e ácido vacênico, que estarão disponíveis para absorção e metabolismo até sua excreção na gordura láctea (BONFIN et al., 2011).

Vistos os potenciais benefícios à saúde, vários trabalhos têm sido desenvolvidos visando manipular a dieta do ruminante para aumentar a concentração desse componente no leite destes ruminantes (COSTA; QUEIROGA; PEREIRA, 2009). Bonfim et al. (2006) demonstram que a suplementação com óleo de soja na ração das cabras elevou em 140% o teor do CLA no leite caprino. A nutrição dos caprinos é o principal fator ambiental que rege a síntese de gordura do leite e a composição de ácidos graxos em ruminantes (NUDDA et al., 2003; BERNARD et al., 2009). Além de promover alterações nos teores de CLA, pode alterar nos níveis de ácidos graxos de cadeia média e curta, importantes também para saúde humana.

2.2.1 Propriedades funcionais do Ácido Linoléico Conjugado

O CLA é considerado uma substância com propriedades funcionais e tem atraído um crescente interesse das pesquisas, devido aos seus benefícios de promoção da saúde em diversas funções biológicas. São atribuídos ao CLA efeitos benéficos na redução do peso corporal, com diminuição da gordura corpórea e manutenção/aumento da massa magra; melhora da sensibilidade à insulina; ação anticarcinogênica e ação de proteção cardiovascular (BHATTACHARYA et al., 2005; PARK; PARIZA, 2007; YANG et al., 2015).

A redução da gordura e peso corporal mediada pelo CLA ocorre devido a vários mecanismos. Primeiramente, o CLA parece induzir o gasto de energia por aumentar o consumo de oxigênio, e expressão das proteínas desacopladoras (UCPs), desviando a energia da produção de adenosina trifosfato (ATP), que seria acumulada, dissipando-a na forma de calor (PARK; PARIZA, 2007). A termogênese aumentada pode estar associada a uma regulação positiva das proteínas de desacoplamento (UCPs), que facilitam o transporte de prótons sobre a membrana mitocondrial interna, desviando, assim, a energia da síntese de ATP para a produção de calor. UCP1 foi o primeiro membro da família a ser isolado e, é expresso exclusivamente em tecido adiposo marrom; é também conhecida como termogenina, e acelera o retorno dos prótons à matriz mitocondrial para que a energia do ciclo de Krebs, originada pela oxidação de substratos energéticos (incluindo lipídios), seja perdida na forma de calor, o que pode levar à perda de peso (BUSIELLO; SAVARESE; LOMBARDI, 2015).

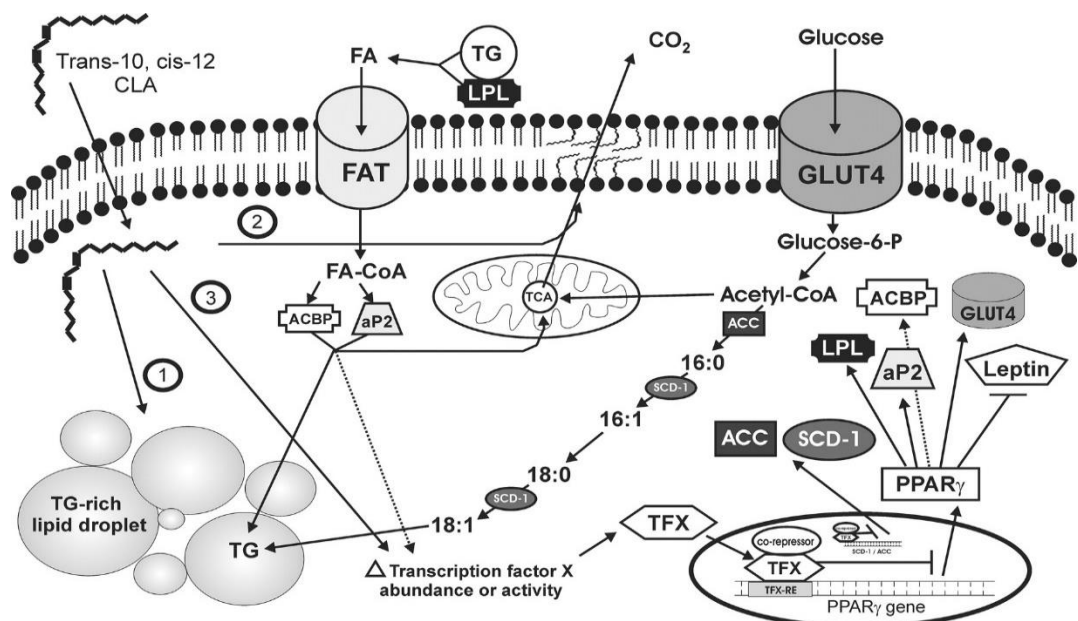
Outro mecanismo verificado é regulação de genes relacionados ao metabolismo lipídico e ao processo de adipogênese. O CLA, especialmente o *trans-10, cis-12*, mostrou ter efeito inibidor da atividade dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ), que são ativadores de genes lipogênicos, diminuem a taxa de diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos (KENNEDY et al., 2010; KANG et al., 2009) e, podem inibir a transcrição de enzimas envolvidas na síntese de novo de ácidos graxos (MA et al., 2014).

A figura 2, apresenta mecanismos propostos pelo qual o CLA *trans-10, cis 12* diminui o acúmulo dos triglicerídeos (TG) nos pré-adipócitos, em humanos. O CLA entra na célula e é transportado para diferentes compartimentos regulatórios. O CLA pode ser esterificado em gotículas de lipídeos ricas em TG, com pouco papel regulador em aumentar os estoques de TG (mecanismo 1). O CLA pode ser esterificado na bicamada dos fosfolipídeos da membrana, onde pode alterar a fluidez da membrana e as cascatas de transdução de sinal associados à membrana

(mecanismo 2). O CLA pode alterar a atividade de um fator de transcrição (TFX), que resulta na repressão transcripcional do receptor PPAR α e seus alvos como: lipoproteína lipase (LPL), proteína de ligação acil-CoA (ACBP), proteína de ligação de ácidos graxos dos adipócitos (aP2), o transportador de glicose (GLUT4) e a leptina. Além disso, ao alterar a atividade de TFX, o CLA diminui a expressão da enzima esteariol-CoA dessaturase 1 (SCD-1) e acetil-CoA carboxilase (ACC), que é provavelmente um mecanismo independente da capacidade de CLA para reduzir a sinalização PPAR α . Ao regular o GLUT4, o ACC e o SCD-1, o CLA atenua a absorção de glicose estimulada pela insulina, síntese de malonil-CoA e síntese de oleatos, diminuindo coletivamente, nova síntese de ácidos graxos (BROWN; MCINTOSH, 2003).

Quando o CLA interage com o complexo co-ativador PPAR aumentando a transcrição genética relacionada à diferenciação de adipócitos, lipólise (β -oxidação), biogênese mitocondrial e sensibilidade à insulina, coletivamente, está estimulando mecanismos relacionados à perda de peso (ABDULJABBAR et al., 2015; LEHNEN, et al., 2015).

Figura 2: Mecanismo proposto pelo qual o CLA *trans-10, cis-12* diminui a acumulação de triglicerídeos na diferenciação de pré-adipócitos (BROWN; MCINTOSH, 2003).



A suplementação com CLA comercial pode aumentar a β -oxidação dos ácidos graxos, por estimular uma maior expressão da enzima carnitina palmitoil-transferase (CPT) nas células de diversos tecidos, favorecendo a captação e utilização de ácidos graxos pelas mitocôndrias

para β -oxidação. Assim, com o aumento da lipólise, redução da atividade da lipoproteína lipase e o aumento da atividade da carnitina-palmitoil-transferase-1 (CPT-1) levam à redução do acúmulo de ácidos graxos nos tecidos adiposo (KENNEDY et al., 2010).

A descoberta dos efeitos do CLA sobre a composição corporal em modelo animal (PARK et al., 1997), incentivou outros estudos com animais. A suplementação de CLA comercial isolado em dosagens de 0,5% (FEDOR et al., 2013) e 1%, (SCALERANDI et al., 2014), demonstraram efeito na redução de peso e gordura corporal. Porém, outros estudos com animais não demonstraram este efeito quando a dosagem foi de 1% (De GUIDE et al., 2013) e 1,5% (ALMEIDA et al., 2015).

Em humanos, os efeitos do CLA sobre composição corporal e perfil bioquímico ainda não são completamente esclarecidos. Alguns estudos demonstraram que a suplementação de CLA a longo prazo promoveram redução de peso e de gordura corporal em homens e mulheres com sobrepeso e/ou obesidade (CHEN et al., 2012; LOPEZ-PLAZA et al., 2013). Porém, quando a dose de suplementação de CLA foi administrada por menor tempo, não foram observadas diferenças na redução de peso e gordura corporal (MACALUSO et al., 2013; SHADMAN et al., 2013).

A suplementação de CLA (2 g/100 g) na dieta de ratos com síndrome metabólica e hipertrigliceridemia hereditária (HHTg) melhorou a sensibilidade à insulina, a tolerância à glicose, promoveu aumento da oxidação de glicose muscular, e amenizou o estresse oxidativo (MALINSKA et al., 2015). Em relação ao controle do estresse oxidativo, constatou-se que o CLA influenciou no aumento das atividades das enzimas antioxidantes catalase e glutathione peroxidase (GPx) e redução da atividade do MDA no músculo de ratos com sarcopenia (RAHMAN et al., 2009). Ao avaliar o mecanismo de ação antioxidante do CLA *in vitro*, Fagali e Catalá (2008) verificaram que os isômeros do CLA mostraram capacidade de reagir diretamente e extinguir os radicais livres, conforme medidas de fotoemissão e métodos espectrofotométricos, contribuindo na prevenção imediata contra radicais livres.

Nos últimos anos, a suplementação de CLA também vem sendo usada por esportistas, visando reduzir a gordura corporal e, possivelmente, melhorar o desempenho. Pesquisas em modelo animal investigaram a associação da suplementação com CLA comercial e exercício físico e constataram efeito no controle de peso, no metabolismo de captação de glicose muscular e na redução do tecido adiposo branco (KIM et al., 2010; FARINA et al., 2014, SHEMA, et al., 2015). Kim e Kim, (2013), ao verificar a combinação da suplementação do CLA ao exercício de esteira constatou modulação na expressão nas citocinas pró-inflamatórias e melhora da

atrofia muscular causada por dano no nervo ciático no grupo suplementado com CLA exercitado.

Nas tabelas 1 e 2 estão apresentados os principais estudos publicados nos últimos 6 anos (2011 – 2017) avaliando o efeito da suplementação de CLA comercial associado ao exercício físico em animais e em humanos e seus principais resultados.

Tabela 1 - Resumo de estudos usando CLA e treinamento físico em animais.

Referências	Animais	Dose de CLA	Duração	Tipo de treinamento físico	Resultados
Kim et al., 2012	Ratos 129Sv/J	c9t11/t10c12 0,5%	6 semanas	Corrida em esteira 15 min (10 m/min) 6 dias/semana	Não houve redução de peso; CLA-t10c12 exercitado apresentou menores níveis de gordura corporal triglicerídeos no grupo, mas aumentou colesterol total.
Salgado et al., 2012	Ratos (machos e fêmeas)	Mistura de CLA 0,5%	65 dias	Corrida em esteira (40 min – 15 m/min) 5 dias/semana	CLA + exercício reduziu peso, gordura coporal e visceral de ratos machos.
Kim; Kim, 2013	Ratos machos	CLA líquido (Biotech)	4 semanas	Corrida em esteira - 25-30 min (15 m/min) com inclinação de 3 a 5%.	Menor peso corporal no grupo tratado com CLA e exercício; não houve diferença nos níveis de expressão do RNAm do TNF α no musculo;
Shen et al., 2015	Ratos 129Sv/J	CLA -t10c12 (0,1%)	7 semanas	Corrida em esteira (60 min a 12 m/min) 5 dias/semana	Suplementação de CLA redução de peso corporal, gordura epididimal, retroperitoneal e inguinal; Aumento dos marcadores de termogênese e oxidação de ácidos graxos no tecido adiposo epididimal e inguinal; O exercício sozinho não influenciou na redução de peso e gordura corporal e termogênese;
Kim, Kim, Park, 2016	Ratos 129Sv/J	Mistura CLA (0,5%)	4 semanas	Corrida em esteira (15 min/dia) 5 dias/semana	Redução de peso corporal independente do exercício;

					A suplementação de CLA melhorou a capacidade de resistência independente da intensidade do exercício através do mecanismo mediado por PPAR δ ;
Cho; Song; Kwo, 2016	ratos machos Sprague-Dawley	Mistura de CLA 1%	8 semanas	Natação (60 min / dia) 5 dias/semana	Redução da insulina e do índice de HOMA nos animais CLA sedentários e CLA exercitado; Redução de glicemia no grupo CLA exercitado. Maior expressão de GLUT4 no grupo CLA exercitado.
Barone et al., 2017	Camundongos	Tonalin CLA (0,5%)	6 Semanas	Rota-rod (5 dias/semana) com aumento gradual de tempo e velocidade	Não estimulou as isoformas do receptor (PGC1) do PPAR e biogênese mitocondrial de animais treinados ou sedentários.
Lee et al., 2017	Ratos C57BL/6	CLA/ ω 3 (1%)	20 semanas	Treino de resistência (escada escalada) com carga (50%) em quatro séries de três repetições	A suplementação de CLA/ ω 3 com treinamento aumentou o ganho de gordura e reduziu o fator TNF α no músculo

Tabela 2 - Resumo de estudos usando CLA e treinamento físico em humanos.

Referências	População	Dose de CLA	Duração	Tipo de treinamento físico	Resultados
Bulut et al., 2013	Homens sedentários (n=80)	Mistura de CLA (3g)	30 dias	Treinamento em bicicleta ergométrica – 30 a 40 min (3 vezes/semana)	CLA + exercício não promoveu redução de peso corporal, circunferências da cintura e quadril, porém reduziu os níveis de triglicerídeos, VLDL E colesterol LDL.
Jenkins et al., 2014	Homens não treinados e moderadamente treinados (n=33)	Clarinoool A- 80 (8 ml/dia)	6 semanas	Treinamento aeróbico – 30 min (2 vezes/semana)	Não houve diferença no peso corporal; CLA não demonstrou efeitos ergogênicos; não preveniu fadiga muscular.
Jenkins et al., 2014	Homens não treinados e moderadamente	Clarinoool (8 ml/dia)	6 semanas	Treinamento aeróbico – 30 min (2 vezes/semana)	A suplementação do CLA combinado com o treinamento

	treinados (n=33)				físico reduziu níveis de triglicerídeos.
Tajmanesh et al., 2015	Estudantes (masculino) (n=80)	Suplementação de mistura de CLA (3,2 g/dia); Placebo (óleo de soja)	8 semanas	Exercício de capacidade máxima em esteira (após 8 semanas)	O CLA não induziu efeito no VO2 máximo, tempo de exaustão e nas medidas antropométricas de jovens não treinados saudáveis;
Tsao et al., 2014.	Homens (n=12)	Mistura de CLA (3,8 g / dia)	8 semanas	Ciclismo – 60 min	Aumento do glicogênio muscular; aumento da expressão de GLUT4; não aumentou oxidação lipídica; não reduziu glicemia e insulina plasmática;
Ribeiro et al., 2016	Mulheres obesas (n=28)	3,2 g/dia de CLA ou 4 g/dia de azeite (grupo placebo)	8 semanas	Treinamento aeróbico (corrida em esteira) 30 min (VO2 80%) (3 vezes/semana)	A suplementação de CLA + exercício aeróbio não promoveu redução da gordura corporal e melhora do perfil lipídico em relação ao placebo em mulheres obesas adultas jovens.
Terasawa et al., 2017	Estudantes atletas (n=10)	CLA (0,9 g/dia)	14 dias	Treinamento em bicicleta ergométrica 40 min (após 14 dias)	O CLA não induziu perda de peso corporal e, não alterou níveis de glicose, triglicerídeos.

Apesar de pesquisas sobre suplementação de CLA e exercício evidenciarem mudanças na composição corporal e outros benefícios nos parâmetros bioquímicos, oxidativos e inflamatórios no organismo de animais, as pesquisas com seres humanos apresentam resultados discordantes (LEHNEN et al., 2015). Outro aspecto a ser considerado é que, a maioria desses estudos utiliza suplementos comerciais de CLA compostos por mix de isômeros com aproximadamente 50:50 de cada um dos dois isômeros (*cis-9,trans-11* e *trans-10,cis-12*) e mais alguma quantidade mínima de outros isômeros menos comuns (BHATTACHARYA et al., 2005; CAMPOS, 2007). A obtenção do CLA sob a forma industrial, ocorre através da hidrogenação parcial do ácido linoleico ou por tratamentos térmicos, com o objetivo de produzir um composto com máxima atividade biológica e com uma composição química definida (BLANKSON et al., 2000).

Nesse sentido, o consumo de alimentos fontes naturais de CLA seria uma alternativa viável, pois incentivaria a produção local desses alimentos, soerguendo economia local, bem como, a presença de outros componentes nutricionais presentes nas fontes alimentares

pode potencializar os efeitos benéficos do CLA e reduzir possíveis efeitos deletérios à saúde, porém necessita de mais investigações. Pesquisas avaliando os efeitos de fontes alimentares enriquecidos naturalmente com CLA ainda são escassas, mas tem alguns resultados positivos. Almeida et al., (2015) verificaram que o consumo de manteiga naturalmente enriquecida em *cis-9, trans-11* CLA impediu a hiperinsulinemia e aumentou colesterol HDL, porém aumentou os níveis séricos de triglicerídeos. A gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA reduziu a ansiedade na prole de ratos tratados durante a gestação (SOARES et al., 2013), reduziu níveis de triglicerídeos, índice aterogênico e aumentou o HDL em ratos em fase de crescimento (RODRIGUES et al., 2014).

Em humanos, a ingestão de manteiga naturalmente enriquecida com *cis 9, trans 11* exerceu efeitos imunomoduladores sobre jovens adultos saudáveis, reduzindo a produção de biomarcadores pró-inflamatórios associados com excesso de peso e obesidade (PENEDO et al., 2013). Assim, o consumo de alimentos fontes de CLA associado ao treinamento físico pode promover repercussões interessantes na composição corporal, perfil lipídico e saúde mental de animais e humanos, porém, esses dados não foram ainda investigados.

2.3 ATIVIDADE FÍSICA vs EXERCÍCIO FÍSICO

A atividade física regular pode prevenir o risco de doenças crônicas não transmissíveis, como, hipertensão, doença cardíaca coronária, acidente vascular encefálico, diabetes, câncer de mama e cólon, sendo considerado um importante fator no gasto de energia, e, portanto, fundamental para o equilíbrio energético e controle de peso (WHO, 2010; VANHEES et al., 2012).

O termo "atividade física" frequentemente é confundido com "exercício", porém, ambos apresentam conceitos diferentes. A atividade física refere-se a qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que resulta em aumento do gasto energético, incluindo movimentos corporais, no trabalho, transporte ativo, tarefas domésticas e atividades recreativas e de lazer. Já o exercício, é definido como uma atividade física planejada e estruturada, com o objetivo de melhorar a aptidão física (SWIFT et al., 2014). A aptidão física pode ser distinguida em aptidão relacionada à saúde (resistência cardiorrespiratória e muscular, força muscular, composição corporal, flexibilidade) e habilidades relacionadas a agilidade, equilíbrio,

coordenação, velocidade, potência e tempo de reação (MIKKELSEN et al., 2017), que pode ser promovida por um treinamento aeróbico, treinamento de resistência ou treinamento combinado aeróbico e de resistência (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1996; SWIFT et al., 2014)

Exercícios aeróbicos são aqueles realizados de maneira contínua que utilizam o oxigênio como principal fonte de energia, sob a forma de adenosina trifosfato-ATP. Envolve grandes grupos musculares por um longo período de tempo, resultando no aumento substancial da frequência cardíaca e gasto energético, como por exemplo: o ciclismo, corrida e natação que podem ser realizados com intensidade baixa a moderada e intensa (VANHEES et al., 2012).

Em virtude de promover um aumento do gasto energético, a atividade física e o treinamento físico são um importante fator no tratamento da obesidade e na manutenção do peso corporal (WHO, 2013). O American College of Sports Medicine (ACSM) propôs recomendações sobre prática de exercícios físicos, visando manter a saúde e auxiliar na perda de peso. Tal recomendação prioriza a via aeróbica por meio de exercícios contínuos de baixa intensidade e longa duração (cerca de 300 min semanais ou 60 minutos por dia) (HASKELL et al., 2007). As Diretrizes de Atividades Físicas para os americanos, também recomendam 60 minutos ou mais de atividade física aeróbica de intensidade moderada.

O treinamento aeróbico físico de intensidade leve ou moderada (com VO_2 máximo entre 25 a 65%) está associado ao aumento de oxidação das gorduras, devido ao maior aumento de energia para o músculo. A lipólise dos triglicerídeos do tecido adiposo, absorção de ácidos graxos no plasma e a oxidação de ácidos graxos aumentam progressivamente ao longo de um exercício (HOROWITZ; KLEIN, 2000).

Uma revisão analisou resultados de investigações sobre o efeito do exercício aeróbico, treinamento de resistência e o treinamento combinado (aeróbico e resistência) sobre o perfil lipídico plasmático. Os dados avaliados evidenciam os efeitos benéficos do exercício físico sobre o colesterol e indicam os impactos das diferentes intensidades sobre as frações lipídicas. Os exercícios aeróbicos de intensidade moderada e/ou o exercício de resistência moderada foram mais efetivo no aumento do colesterol HDL, mas para reduzir os níveis de triglicerídeos e colesterol LDL, a intensidade deve ser aumentada (MAN et al., 2014; VANHEES et al., 2012). A redução do colesterol LDL pode estar diretamente relacionada à redução da massa corporal e da massa gordurosa na região visceral, devido à diminuição dos ácidos graxos livres e à formação de diferentes moléculas de lipoproteínas (ZIMMERMANN et al., 2004).

Pesquisa com adultos inativos com sobrepeso e/ou obesidade verificou o efeito de diferentes protocolos de treinamento aeróbico sobre peso corporal, gordura visceral e hepática.

Os participantes foram distribuídos em três grupos: treinamento aeróbico de alta intensidade e alto volume; treinamento aeróbico de intensidade baixa a moderado com alto volume e treinamento aeróbico de intensidade baixa a moderada com baixo volume, durante oito semanas. Todos os regimes de exercícios aeróbicos empregados reduziram a gordura hepática e gordura visceral, porém sem perda de peso significativa (KEATING et al., 2015). Cho et al., (2014) verificaram que o treinamento físico aeróbico também foi eficaz em reduzir o peso corporal, gordura hepática e suas complicações metabólicas em camundongos C57BL/6 com esteatose hepática induzida por dieta com alto teor de gordura. Os efeitos benéficos do treinamento aeróbico foram associados à melhora de marcadores moleculares de função mitocondrial e/ou de oxidação de ácidos graxos e a supressão da expressão de marcadores da lipogênese e síntese de triglicerídeos no fígado.

O exercício também é uma importante ferramenta para prevenir e tratar o diabetes tipo 2, por ativar diversos mecanismos celulares dependentes da intensidade do treinamento. O exercício promove efeito agudo (durante a sessão), que ativam sinais moleculares alternativos que podem contornar defeitos na sinalização de insulina no músculo esquelético, resultando no aumento da absorção de glicose independente da insulina. Já o treinamento físico crônico (treinamento regular), melhora a função e a biogênese mitocôndrial e aumenta a expressão da proteína GLUT4 no músculo esquelético, que está associada à melhora da sensibilidade à insulina do músculo esquelético (STANFORD; GOODYEAR et al., 2014).

Além disso, o exercício físico também tem um importante papel sobre os estados de humor, como ansiedade, estresse e depressão, através de mecanismos fisiológicos e bioquímicos sobre o sistema nervoso central (MIKKELSEN et al., 2017).

2.4 EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Os benefícios do exercício físico para a saúde corporal e mental já estão bem estabelecidos na literatura. O exercício físico regular de intensidade moderada, como caminhar e andar de bicicleta, melhora a resistência cardiorrespiratória, reduz os riscos de desenvolver doenças crônicas não degenerativas, como hipertensão, obesidade, diabetes mellitus e também a depressão (WHO, 2013). Além disso, exerce efeitos positivos sobre sintomas de transtornos de ansiedade e transtorno de humor e depressão, embora os mecanismos biológicos subjacentes a este efeito ainda não são completamente compreendidos (NG; DODD; BERK, 2007; JACKA et al., 2011; MOILAN et al., 2013).

O papel do treinamento físico na melhora das funções do SNC e na sua integridade é mediado por vários mecanismos fisiológicos e bioquímicos. Uma revisão realizada por Mikkelsen et al. (2017) descreve os efeitos positivos do exercício sobre os estados de humor, como ansiedade, estresse e depressão, através de mecanismos fisiológicos e bioquímicos, incluindo endorfinas, mitocôndrias, mTOR, neurotransmissores e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

A depressão e os distúrbios do humor, estão associados a mecanismos de neuroplasticidade cerebral e neurogênese. O exercício físico pode melhorar a neuroplasticidade e neurogênese pelo aumento da função mitocondrial cerebral (GUDSON et al., 2017). Pesquisa realizada por Aguiar et al., (2014) demonstrou que ratos submetidos a seis semanas de exercício físico voluntário (corrida em rodas), apresentaram redução de comportamento de ansiedade, estimulou atividade mitocondrial do cérebro e aumentou a expressão de genes RNAm do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), sugerindo que o exercício, ao melhorar a função das mitocôndrias, potencializa a neuroplasticidade e melhora o humor.

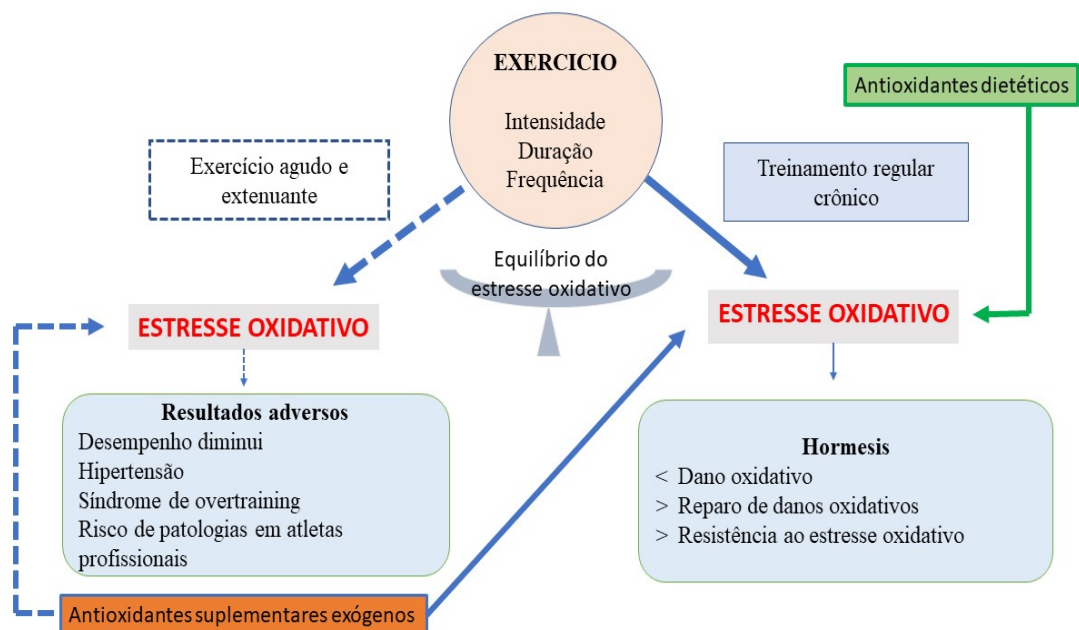
Os fatores neurotróficos BDNF e GDNF são pequenos peptídeos que pertencem à família de fatores neurotróficos e são distribuídos em diferentes regiões do sistema nervoso central (SNC). O BDNF é um dos fatores neurotróficos mais importantes no cérebro, que desempenha função no processo de aprendizagem, memória, locomoção, comportamentos e uma variedade de respostas ao estresse (RADAK et al., 2013; RADAK et al., 2006; VAN PRAAG et al., 1999). A elevação da concentração do BDNF e GDNF no hipocampo parece ser independente da intensidade do exercício físico, visto que, pesquisas demonstraram que, os níveis de BDNF e GDNF foram elevados e a função da memória e coordenação de animais foram mantidas, quando submetidos ao exercício físico moderado e alta intensidade com intervalo (HIT) (MOYLAN et al., 2013; AFZALPOUR et al., 2015).

Os efeitos ansiolíticos do exercício físico acontecem, em parte, por meio de mecanismos anti-inflamatórios e anti-oxidantes (MOYLAN et al., 2013). Segundo Radak et al. (2006), o exercício agudo desafia o estado redox no cérebro, e quando realizado regularmente, pode induzir aumento dos níveis de enzimas antioxidantes, e aumento da resistência contra o estresse oxidativo. Pesquisa realizada por Afzalpour et al. (2015), constatou que o treinamento físico de alta intensidade com intervalo (HIT) e o treinamento contínuo promoveram aumentos significativos nas concentrações de BDNF, GDNF e também de H_2O_2 e $TNF-\alpha$ no cérebro de ratos, indicando que o aumento adicional de H_2O_2 e $TNF-\alpha$ decorrente do treinamento físico

resultou no aumento das concentrações de BDNF e GDNF no cérebro. Contudo, é questionável até que nível (quantidades) o H_2O_2 e o $TNF-\alpha$ podem influenciar no aumento das neurotrofinas.

O exercício físico, normalmente, aumenta a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) devido a uma maior demanda por oxigênio e geração de energia pelas mitocôndrias. Embora, o treinamento regular moderado pareça benéfico para o estresse oxidativo e para a saúde, ataques agudos e extenuantes de exercícios aeróbicos e anaeróbicos podem induzir a excesso de produção de ROS (Figura 3) (PINGITORE et al., 2015). O estresse oxidativo ocorre de um desequilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e as defesas antioxidantes do organismo. Dessa forma, pode ser definido como um aumento da produção de radicais livres que podem reagir com componentes celulares e teciduais, em detrimento das defesas antioxidantes (JACKSON; VASILAKI; MCARDLE, 2016).

Figura 3: Efeitos integrados do exercício (agudo e extenuante, crônico e regular), antioxidantes na dieta e suplementação de antioxidante exógeno sobre o estado de estresse oxidativo. Os efeitos benéficos são representados pela linha contínua, enquanto com linha tracejada são mostrados os efeitos prejudiciais (adaptado de PINGITORE et al., 2015).



No cérebro, o aumento do estado oxidante pode danificar a arquitetura celular normal, inibindo processos normais de sobrevivência celular, neurogênese e neuroplasticidade o que desencadeia alterações no comportamento de ansiedade (MOYLAN et al., 2013).

O exercício agudo ou realizado de forma extenuante aumenta a atividade metabólica e favorece a ocorrência de lesões oxidativas em biomoléculas, prejudicando as funções celulares (MARIN et al., 2013). No músculo, o exercício físico intenso induz a produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (RONS) que, em quantidade excessiva, desempenha um papel prejudicial no desempenho do exercício crônico ou agudo através da função contrátil ou fadiga muscular (VARAMENTI et al., 2013). A lesão muscular induzida pelo exercício está associada com uma resposta inflamatória de fase aguda caracterizada por infiltração fagocitária no músculo, produção de ROS, e elevação de citocinas inflamatórias e outras moléculas (KIRSCHVINK et al., 2008; ISANEJAD et al., 2015).

Contudo, pesquisas tem apontado a potencial importância das ROS na sinalização das respostas moleculares e celulares normais relacionadas ao exercício. Em particular, as vias de sinalização redox estão associadas com melhora do mecanismo de sensibilidade e absorção da glicose pelo músculo esquelético, modulação dos níveis endógenos de enzimas antioxidantes, biogênese mitocondrial, força de contração muscular e hipertrofia muscular (GOMEZ-CABRERA et al., 2015; MERRY; MCCONELL, 2012; PAULSEN et al., 2014; JACKSON, 2009; MAKANAE et al., 2013; MASON et al., 2016).

A hipótese da melhora das defesas antioxidantes, está relacionada à resposta do organismo aos aumentos repetidos na produção de ROS através de uma reação adaptativa que inclui a regulação dos antioxidantes e a mudança para um ambiente mais redutor, e o aumento da resistência ao estresse (VASSALE et al., 2014). Cruzat et al. (2007) afirmam que ao mesmo tempo em que essas adaptações reparam as lesões teciduais, preparam o organismo para um novo estresse aumentando a atividade antioxidante celular.

A maioria dos estudos que avaliam os efeitos do exercício sobre o cérebro e saúde mental utilizam programas de exercícios que, se concentram em grande parte no condicionamento cardiorrespiratório, adotando os exercícios aeróbicos que utilizam atividade prolongada de grandes grupos musculares, como por exemplo, os exercícios em esteiras rolantes (EL-KADE; AL-JIFFRI, 2016; RADAK et al., 2016).

2.5 ESTRESSE OXIDATIVO E VULNERABILIDADE CEREBRAL

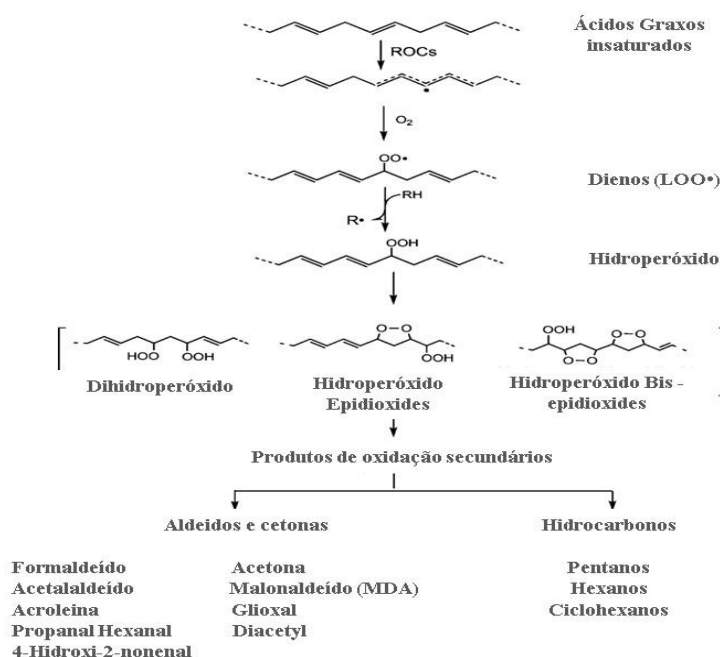
O cérebro requer alta demanda de oxigênio, e sua abundância de substratos altamente peroxidizáveis, como os lipídeos (RADAK et al., 2013), torna-o um tecido vulnerável aos efeitos das espécies reativas propiciando a peroxidação lipídica, carbonilação de proteínas e danos ao DNA celular e, ocasionando alterações das funções celulares, danos teciduais, levando ao consumo das defesas antioxidantes orgânicas (KROLOW et al., 2014).

A peroxidação lipídica constitui uma reação em cadeia dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, gerando radicais livres que alteram a permeabilidade, fluidez e integridade das mesmas (GHANDI; ABRAMOV, 2012). O mecanismo pelo qual os EROS promovem a peroxidação lipídica (Figura 4) consiste na retirada de um átomo de hidrogênio do grupo metileno do ácido graxo insaturado, formando, conseqüentemente, radicais livres, como o radical peroxila e, em seguida, são formados vários produtos de oxidação secundária, como aldeídos, hidrocarbonetos e cetonas, sendo alguns desses produtos usados como biomarcadores de estágios finais da peroxidação lipídica, como é o caso do malonaldeído (MDA) (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

No cérebro, os produtos da oxidação de AGPI, especialmente, ácido araquidônico e ácido docosahexanoico geram MDA e 4-hidroxinonenal (KROLOW et al., 2014). O MDA é capaz de causar prejuízos a vários processos fisiológicos através de sua capacidade de reagir com moléculas, como proteínas e DNA (PELLEGRINI, 2000). Neste sentido, a elevação dos níveis de MDA é indicativo do aumento do estresse oxidativo no cérebro e, tem sido relacionado ao acometimento de doenças neurodegenerativas e aumento do comportamento de ansiedade e depressão (KROLOW et al., 2004; STEECAMP et al., 2017).

Pesquisa realizada por Brocardo et al. (2012), verificou que o comportamento de ansiedade e depressão em ratos adultos foram associados a mudanças nos parâmetros de estresse oxidativo, tais como, níveis aumentados de peroxidação lipídica e oxidação protéica, e redução em níveis de glutathiona no hipocampo e no cerebelo. Por sua vez, Salim et al. (2010), também constaram que ratos expostos a diferentes protocolos de indução de estresse oxidativo, aumentaram os níveis dos marcadores 8- isoprostano (no soro e urina) e MDA (no hipocampo e amígdala) e apresentaram aumento do comportamento de ansiedade.

Figura 4: Esquema representativo da peroxidação lipídica, enfocando os principais produtos secundários formados durante o processo (adaptado de LIMA et al., 2001).



Em trabalho de revisão publicado por Ghandi e Abramov (2012) foram apresentadas várias pesquisas, nas quais, o estresse oxidativo está associado com doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Alzheimer (AD) e doença de Parkinson. Estudos com humanos e animais, demonstraram que AD é caracterizada por perda neuronal progressiva associada com agregação de proteína β -amilóide extracelular (β A) formando placas intracelulares, e que os cérebros tanto de pacientes como de animais com AD, evidência de lesão mediada por ROS e aumento de níveis de malondaldeído e 4-hidroxinonais no cérebro e líquido cefalorraquidiano.

O motivo dessa vulnerabilidade dos neurônios ao estresse oxidativo tem sido relacionado às baixas concentrações de glutathione nestas células, em comparação com outros tecidos (HASAN; JOE; ALSHUAIB, 2007). Desta forma, o dano induzido pelo estresse oxidativo no cérebro pode levar à apoptose neuronal, desencadeando o início de distúrbios neurodegenerativos (REYNOLDS et al., 2007; ROH; CHO; SO, 2017).

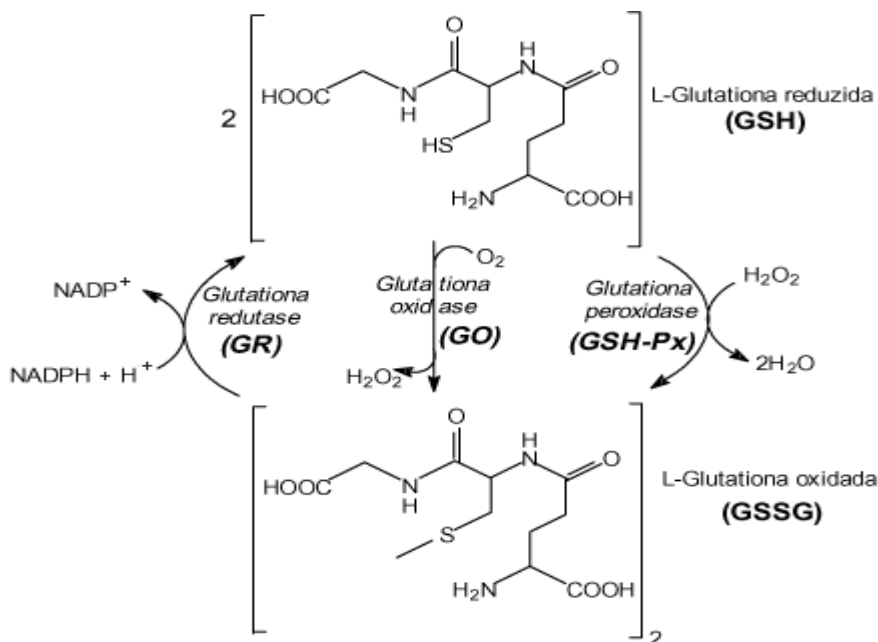
O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais. Esta ação pode ser mediada por diferentes mecanismos de ação, como: impedindo a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (CLARKSON; THOMPSON, 2000).

O principal antioxidante no sistema nervoso central é a glutathiona (GSH), que consiste em um tripéptido de glutamato, cisteína e glicina caracterizado por um grupo de tiol reativo e uma ligação γ -glutamil. A GSH reduzida pode agir de forma não-enzimática diretamente com radicais de superóxido, radicais de hidroxil, óxido nítrico e radicais de carbono para remoção destes (DRINGEN; HIRRLINGER, 2003). A Glutathiona está presente no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG). A síntese de GSH associada com a redução de GSSG, promove a manutenção do estado redox intracelular, funcionando como co-fator para enzimas citoplasmáticas e indutores de certas modificações translacionais em diversas proteínas (TOWNSEND; TEW; TAPIERO, 2003).

O mecanismo de conversão da GSH em GSSG (Figura 5) é catalisada pela enzima Glutathiona peroxidase (GPx) durante os períodos de estresse oxidativo (SALMINEN et al., 2014), essa reação está acoplada à redução do H_2O_2 em água. A quantificação de glutathiona pode indicar ainda uma possível correlação entre a diminuição das atividades de enzimas antioxidantes, como a GPx, e o aumento nos níveis de bases de DNA lesadas devido ao dano oxidativo, comprovando a hipótese de que reações que levam à formação de radicais livres (MAZZETTI et al., 2015).

Quando o sistema de defesa GSH está comprometido no cérebro, ocorre elevação do estresse oxidativo e consequentes danos às células neuronais, que desencadeia o desenvolvimento de doenças neurológicas. Mazzetti et al. (2015) relataram uma associação entre a depleção de glutathiona e doença de Parkinson e Alzheimer, assim como o aumento do comportamento de ansiedade e depressão.

Figura 5: Mecanismo de conversão da GSH em GSSG (TOWNSEND, TEW, TAPIERO, 2003).



Segundo Ghandi e Abramov (2014), as células cerebrais e, especialmente os neurônios, requerem proteção antioxidante por vários motivos. Primeiro, eles exibem maior consumo de oxigênio em comparação com outros tecidos. Segundo os neurônios têm uma longa vida de duração. Terceiro, a presença do óxido nítrico presente no cérebro pode formar espécies reativas nitrogênio, como o peroxinitrito, em combinação com algumas formas de oxigênio, como superóxido. O óxido nítrico pode participar da nitrosilação de proteínas, no entanto, o peroxinitrito é altamente reativo, podendo alterar funções de proteínas importantes, como as neurotrofinas.

De particular importância, o cérebro é mais susceptível ao dano oxidativo quando comparado a outros órgãos ou sistemas (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004), principalmente porque contêm elevados níveis de lipídios de membrana, ácidos aminados de excitotoxicidade, baixos níveis de defesas antioxidantes e neurotransmissores autoxidáveis (TEIXEIRA et al., 2008).

Os lipídeos dietéticos, por exemplo, podem modular os níveis de GSH. O tratamento de células mamárias com PUFAS induziu aumento da síntese celular de GSH (ESPINOSA-DIEZ et al., 2015). Basirico et al., (2017) verificaram que a síntese de GSH foi regulada positivamente quando células mamárias foram tratadas com CLA comparada a outros ácidos graxos. Sendo assim, é essencial que o exercício físico associado a dieta mantenha um estado de equilíbrio entre formação de radicais livres e substâncias anti-oxidantes (PINGITORE et al., 2015) e prevenção de alterações comportamentais.

A suplementação de óleo de peixe, a partir do pré-natal até meia-idade, associado programa de exercício físico durante toda a vida, induziu melhor desempenho cognitivo (RACHETTI et al., 2013). Texeira et al., (2015), avaliaram a influência do exercício físico sobre parâmetros de comportamento e estado enzimático de ratos suplementado com diferentes ácidos graxos dietéticos, constaram que os animais que consumiram dieta com gordura hidrogenada apresentaram memória de aquisição diminuída, em comparação com o grupo que consumiu dieta com óleo de soja, mas o exercício físico reverteu este efeito. Portanto, o perfil de ácidos graxos consumido pode melhorar o padrão comportamental. Porém, quando estes lipídeos promovem efeitos negativos no funcionamento cerebral, a associação do exercício físico pode reverter esses danos.

Pesquisa realizada por Pusceddu et al. (2015) verificaram que animais tratados com EPA/DHA 0,4 g/kg/dia ou EPA/DHA de 1 g/kg/dia, apresentaram na fase adulta, redução dose/dependente na ansiedade de animais que não passaram por estresse de separação. Além disso, a suplementação de EPA/DHA de 1g/kg/dia diminuiu o comportamento de desespero no teste de natação forçada. Yi et al. (2012) afirmaram que a inflamação do hipotálamo pode ser revertida com exercício e sugerem que intervenções na dieta também pode proteger da inflamação hipotalâmica e ansiedade.

Os efeitos do exercício aeróbico sobre modulação bioquímica, estresse oxidativo, comportamento de ansiedade apresentam diferentes respostas, dependente do modelo, da intensidade do exercício e suplementação. A dieta e/ou seus componentes podem auxiliar no controle do estresse oxidativo nos tecidos quando associados ao treinamento físico, porém é pouco explorado. Neste sentido, é necessária maior investigação sobre os efeitos de fontes alimentares com potencial funcional associado ao exercício físico sobre as repercussões sobre à saúde corporal e mental.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

O tipo de pesquisa foi desenvolvido utilizando modelo animal experimental. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bromatologia (LABROM), Nutrição Experimental (LANEX) - CES/UFCG, Farmacologia - III/UFRN e no Centro de Pesquisa Interdisciplinar em Saúde Animal (CIISA) - FMC – ULISBOA.

3.2 ASPECTOS BIOÉTICOS

O protocolo experimental seguiu as recomendações éticas do National Institute of Health Bethesda (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com animais, sendo levado em consideração o bem-estar dos animais no laboratório, de modo que o sofrimento e o estresse dos animais no experimento foram minimizados. O presente protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal CEUA/CSTR – UFCG nº de protocolo CEP 142/2014.

3.3 MATERIAL

As gorduras de leite de cabra utilizadas no presente estudo foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agrícola - EMBRAPA. Foi utilizada gordura de leite de cabra com teor normal de CLA e gordura de leite de cabra teor aumentado de CLA. Para obtenção da gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA, as cabras receberam uma dieta contendo 3,5% de óleo de soja durante 20 dias. Em seguida, o leite de cabra foi coletado e desnatado para coleta do creme que foi congelado e armazenado até a preparação da dieta experimental e foi, então, oferecido aos ratos (BOMFIM, 2011).

3.4 IDENTIFICAÇÕES DOS ÁCIDOS GRAXOS E ISÔMEROS DO CLA DA GORDURA DE LEITE DE CABRA E TECIDOS

As amostras das gorduras, óleo de soja (SO), gordura de leite de cabra (GM) e gordura de leite de cabra com teor aumentado de CLA (GM-CLA), bem como fragmentos de cérebro foram analisadas quanto aos seus perfis lipídicos no Laboratório de Sistemas de Produção Animal do Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal da Universidade de Lisboa. As amostras de cérebro foram liofilizadas no Laboratório de Nutrição Animal, no Centro de Ciências Agrárias - CCA/UFPB. Em seguida, colocadas em *ependorfs* e mantidos a -80°. Em seguida, foram enviadas para o Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) do Departamento de Produção Animal e Segurança Alimentar, da Universidade de Lisboa para análise do perfil ácidos graxos.

O procedimento de transesterificação das amostras foi realizado segundo Sukhija e Palmquist (1988) e Palmquist e Jenkins (2003), com adaptações. Os ácidos graxos foram analisados sob a forma de ésteres metílicos por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (GC-FID), utilizando-se um equipamento Shimadzu QP2010-plus (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma coluna capilar de sílica-fundida (SP-2560, 100 m × 0,25 mm × 0,20 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Durante a análise, o injetor e o detector foram mantidos a 250 °C e 280°C, respectivamente. Utilizou-se hélio como gás de arraste a fluxo constante de 1 mL/min e foi injetada 1 µL de amostra. A temperatura do forno foi programada para iniciar a 50 °C, aumentando em 50 °C a cada minuto, até atingir 150°C, mantendo-se por 20 minutos. Em seguida aumentou-se 1 °C a cada minuto até atingir 190 °C por 1 minuto, posteriormente o aumento foi de 2 °C, a cada minuto, até atingir 220°C, mantendo-se por 30 minutos. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos e os resultados expressos em percentual de área (%)

3.5 ENSAIO BIOLÓGICO

3.5.1 Animais e dietas experimentais

Ratos machos com 70 dias de vida (230-280 g) foram mantidos em condições padrão e divididos aleatoriamente em seis grupos, (10 animais por grupo, totalizando 60) de acordo com o tipo de dieta: grupo controle sedentário (CON) e exercitado (CON-EX), com dieta padrão com óleo de soja; grupo gordura de leite de cabra sedentário (GM) e exercitado (GM-EX); grupo dieta com gordura de leite de cabra com teor aumentados de CLA sedentário (GM-CLA) e exercitado (GM-CLA-EX). As dietas apresentadas na Tabela 3 foram formuladas com base em recomendações do Instituto Americano de Nutrição - AIN-93M (REEVES et al., 1993) com componentes adquiridos com empresa Rhoster (São Paulo, Brasil). A composição da dieta consistiu em 14% de caseína, 60% de amido de milho, 10% de sacarose, 5% de gordura, 5% de celulose, 3,5% de mistura mineral, 0,25% de colina, 0,18% de D, L-cistina e 1% de mix de vitamina (AIN-93). Os ratos receberam dietas experimentais e água *ad libitum* durante quatro semanas e, o peso corporal e o consumo de alimentos foram registrados semanalmente.

Tabela 3- Composição das dietas experimentais

Componentes (g/100 g)	CON	GM	GM-CLA
Caseína	14,0	14,0	14,0
Gordura LC	-	5,0	-
Gordura LC com CLA	-	-	5,0
Óleo de soja	5,0	-	-
Celulose	5,0	5,0	5,0
Mix Vitamínico	1,0	1,0	1,0
Mix de Minerais	3,5	3,5	3,5
L Cistina	0,18	0,18	0,18
Bitartarato de Colina	0,25	0,25	0,25
Sacarose	10,0	10,0	10,0
Amido	60,27	60,27	60,27
TOTAL	100	100	100
VET (kcal)	340 kcal	340 kcal	340 kcal

LC: leite de cabra; CON: dieta padrão; GM: dieta com gordura caprina; GM-CLA: dieta com gordura caprina com teor aumentado de CLA.

3.5.2 Treinamento Físico

Na semana antecedente ao período de treinamento, os animais foram submetidos ao período de adaptação à corrida em esteira, com velocidades e tempos progressivos para classificação de desempenho do treinamento. Para medida de treinamento e seleção de animais corredores e sedentários, foi classificado o desempenho dos animais na esteira rolante de acordo com escala de 1 a 5 descrito por Dishman et al. (1988). De acordo com os seguintes parâmetros: 1 - recusou-se a correr; 2 - corredor abaixo da média (esporádica, para e continua, direção errada); 3 - corredor médio; 4 - corredor acima da média (corredor consistente ocasionalmente cai para trás na esteira); 5 - bom corredor (consistentemente fica à frente na esteira). Os animais com classificação igual ou acima de 3 foram incluídos no grupo de exercitados. Os animais excluídos dos grupos de exercício formaram o grupo sedentário.

Os animais dos grupos exercitados foram submetidos ao protocolo de exercício físico cinco dias/semana (segunda a sexta) por quatro semanas (Tabela 4), em esteira motorizada (Insight EP-131, 0° inclinação) (GOMES DA SILVA et al., 2010; BATISTA-DE-OLIVEIRA

et al., 2012). O grupo sedentário, permaneceu na esteira desligada com tempo e sessões semanais iguais aos grupos exercitados.

Tabela 4 - Protocolo de Treinamento.

	Tempo (min)	Velocidade (m/min)
1º dia adaptação (segunda)	5	10
2º dia de adaptação (terça)	5	11
3º dia de adaptação (quarta)	8	12
4º dia de adaptação (quinta)	8	13
5º dia de adaptação (sexta)	10	14
1ª semana (segunda a sexta)	20	15
2ª semana (segunda a sexta)	30	18
3ª semana (segunda a sexta)	40	20
4ª semana (segunda a sexta)	50	20

Fonte: Adaptação Gomes da Silva et al. (2010); Batista de Oliveira et al. (2012)

Figura 6: Esteira rolante



3.6 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR, PESO CORPORAL E GANHO DE PESO CORPORAL SEMANAL.

O peso corporal e o consumo de alimentos foram registrados semanalmente em balança eletrônica digital Balmax ® (modelo ELP – 25, com capacidade máxima 500 g). O consumo alimentar foi calculado semanalmente, e representou a diferença entre o alimento oferecido e o rejeito seguindo a fórmula: ingestão (g) = cota oferecida (g) - rejeição limpa (g). O alimento que não foi consumido e permaneceu na área externa da gaiola foi considerado uma rejeição

limpa (VADIVEL; PUGALENTHI, 2010). O ganho de peso foi obtido pelo cálculo (Peso final – Peso inicial) semanal.

3.7 TESTES COMPORTAMENTAIS

Ao final das quatro semanas de treinamento físico, após repouso de 48h, todos os animais foram submetidos aos testes que mediram o comportamento de ansiedade. O teste de Campo Aberto foi realizado após o repouso de 48 horas da ultima sessão e, o Teste de Labirinto em Cruz Elevado foi realizado, no dia seguinte (24 horas) após o teste de Campo Aberto. Os testes foram realizando no período da manhã, no horário das 6:00 as 10:00 horas.

3.7.1. Campo Aberto

O campo aberto é um instrumento para testar o comportamento de ansiedade e atividade exploratória, a fim de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (PELLOW; FILE, 1986).

Os animais foram colocados no Campo Aberto, que consiste em uma arena circular metálica (pintada de branco) delimitada por paredes brancas com a parte superior aberta. O piso da arena é dividido em 17 campos (com linhas pintadas de preto), sendo 3 círculos concêntricos (1metro diâmetro) que são subdivididos em um total de 16 segmentos e um círculo central. Cada animal foi colocado no centro do aparelho e observado durante 10 minutos. Foram avaliados os seguintes parâmetros: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas); número do comportamento de levantar (*rearing*); tempo do comportamento de autolimpeza (*grooming*) e defecação (registrada pelo número de bolos fecais). As sessões foram filmadas com câmera de vídeos instalada no teto. Posteriormente os vídeos foram analisados e os parâmetros comportamentais identificados e registrados.

Figura 7: Campo Aberto



3.7.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O LCE é comumente utilizado como modelo não-condicionado de ansiedade em roedores (PELLOW; FILE, 1986). O teste consiste em colocar o animal em um LCE, elevado do solo, formado por dois braços fechados por paredes e dois abertos perpendicular aos braços fechados.

A cada sessão, um animal foi colocado no centro do aparelho cuidadosamente com o focinho voltado para um dos braços fechados e foi permitido a livre exploração durante 5 (cinco) minutos. As sessões foram filmadas com uma câmera de vídeo instalada no teto em ambiente de pouca luz. Posteriormente foram analisadas as seguintes categorias comportamentais: número de entradas nos braços abertos e fechados, tempo gasto em cada um dos braços, tempo gasto na área central e número de mergulho de cabeça.

Figura 8: Labirinto em Cruz Elevado



3.8 AVALIAÇÃO MURINOMÉTRICA

Após o teste do Labirinto em Cruz Elevada os animais foram submetidos a última sessão de treinamento físico por 50 min com velocidade de 20m/minutos. No dia seguinte, 24 horas

após ultima sessão de treinamento, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina + Cloridrato de Xilasina (1 mL/kg de peso) para aferição da circunferência torácica (CT), da circunferência abdominal (CA) e, do peso corporal e comprimento do corpo para determinação do índice de massa corporal (IMC) = peso corporal (g) / comprimento/ (cm²) (NOVELLI et al., 2007).

3.9 EUTANÁSIA E PREPARAÇÃO DOS TECIDOS

Após anestesia geral dissociativa com cloridrato de Ketamina + cloridrato de Xilasina (1 mL/kg de peso), os animais foram eutanasiados. A eutanásia foi realizada através da seção das artérias carótidas e veias jugulares sob anestesia geral e, portanto, inconsciente. Então, a decapitação foi obtida para obter tiras do córtex cerebral, que foram pesadas e armazenadas a -80 ° C para posterior análises. Foram isolados e retirados o músculo gastrocnêmio, fígado, gordura mesentérica, gordura retroperitoneal e gordura epididimal para análises posteriores. Todos os órgãos e tecidos foram pesados imediatamente e, em seguida, colocados em superfície com gelo. O fígado foi dividido em duas porções, uma para análise de gorduras totais e a outra para composição de ácidos graxos. O cérebro e o músculo gastrocnêmio foram divididos em faixas para posterior análise de antioxidantes. Os tecidos foram mantidos a -80 °C até o momento das análises.

3.10 ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CORPORAL

3.10.1 Adiposidade corporal

Os tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico e epididimal foram removidos e quantificados. O índice de adiposidade corporal foi calculado pela soma do peso de tecido adiposo retroperitoneal, mesentérico e epididimal, utilizando a fórmula: retroperitoneal + mesentérico + gordura epididimal × 100 / peso corporal final (adaptado de STUNKARD e WADDEN, 1993).

3.10.2 Composição corporal

Para análise de composição corporal, a carcaça dos animais foi pesada e em seguida armazenadas em freezer (20° C). Posteriormente, foram trituradas em moinho industrial (Moedor de Carne CAF-10 Inox 1/2CV). A proteína corporal foi determinada pelo método de MicroKjeldahl (AOAC, 2012) e o percentual de gordura total quantificado pelo método de Folch; Loss; Stanley, 1957).

3.11. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para dosagem de glicose, colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos utilizando o conjunto de diagnósticos Colesterol Liquiform[®], HDL- Liquiform[®], Triglicérides Liquiform[®] da marca Labtest[®]. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Spectrophotômetro SP 1102) operando na faixa específica indicado pelo fabricante do kit. A concentração de colesterol da LDL foi calculada utilizando-se a fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD, 1972). Também foram calculadas as razões CT/HDL-C (CASTELLI, 1988) e TG/HDL-C (GAZIANO et al., 1997).

3.12 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO

3.12.1 Concentração de Glutationa

A determinação do conteúdo de glutathione total (GSH) foi realizada pelo método descrito por Anderson (1985). Após fragmentação do músculo gastrocnêmio e do cérebro, uma tira de cada tecido foi destinada para a determinação do conteúdo de glutathione total. O tecido foi imediatamente pesado e levado ao congelamento, a uma temperatura de -80 °C, com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA), a fim de se inibir a degradação da GSH pela gama-glutamyltranspeptidase. Foi calculada a quantidade total de TCA para cada amostra na proporção de 1:20 (p/v). Para determinação deste conteúdo, as amostras foram descongeladas e picadas com uma tesoura, por aproximadamente, 15 segundos em meio resfriado. O material fragmentado foi triturado e homogeneizado a frio, sob ação de um triturador (Ultra Stirrer modelo: Ultra 80), e a ele adicionado o restante da solução de TCA. O homogenato obtido foi centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos a 4 °C e o sobrenadante submetido a uma centrifugação a 10000 rpm por 5 minutos a 4 °C. Em uma microplaca de 96 poços, foi adicionado 20 µL de

cada diluição do padrão (duplicata), 20 µL da solução de TCA para o branco (duplicata) e 20 µL do sobrenadante das amostras (duplicata). A cada poço foi adicionado, na seguinte ordem, 15 µL de PBS-EDTA, 20 µL de solução de DTNB e 140 µL de NADPH. Posteriormente, cada placa foi incubada, a 30 °C, por 5 minutos, e a cada poço adicionado 15 µL da solução enzimática (GSHred). A absorbância foi determinada em um comprimento de onda de 412 nm através de leitor de microplacas (Polaris), no tempo de 3 minutos. O conteúdo de glutatona total foi calculado através de interpolação em uma curva padrão realizada com GSH e os resultados expressos em nmol/g de tecido.

3.12.2 Níveis de Malonaldeído

A determinação do conteúdo de MDA foi realizada pelo método descrito por Esterbauer e Cheeseman (1990). Após fragmentação do músculo gastrocnêmio e do cérebro, uma tira de cada tecido foi separada para esta análise, colocada em microtubo de 2,0 mL e levada ao congelamento a uma temperatura de -80 °C. Para a determinação do MDA, as amostras de tecidos foram descongeladas e, posteriormente pesadas. Mediante o peso foi calculada a quantidade de tampão Tris HCl para cada amostra, utilizando-se a proporção de 1:5 (p/v). O tecido foi picado com uma tesoura por, aproximadamente, 15 segundos em meio resfriado. O material fragmentado foi triturado e homogeneizado a frio, sob ação de um triturador (Ultra Stirrer modelo: Ultra 80), e a ele adicionado o tampão Tris HCl. O homogenato obtido foi centrifugado a 4950 rpm, por 10 minutos a 4 °C e 300 µL do sobrenadante será transferido para um eppendorf, sendo adicionados 750 µL do reativo cromogênico e 225 µL de ácido clorídrico (HCl – 37%). Em seguida, o material foi colocado em banho-maria com agitação a 45° C, durante 40 minutos, e posteriormente, foi centrifugado a 4950 rpm durante 5 minutos a 4 °C. 300 µL do sobrenadante foi transferido para microplaca de 96 poços, em duplicata, e levado para leitor de microplacas (Polaris) a um comprimento de onda de 586 nm. O conteúdo de MDA foi calculado através de interpolação em curva padrão com o 1,1,3,3 – tetraetoxipropano, o qual é hidrolisado durante o passo de incubação com HCl a 45 °C, gerando o MDA. Os resultados foram expressos em nmol/g tecido.

3.13 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram expressos como média e erro padrão da média (SEM), para todos os dados avaliados. Para verificação da curva de normalidade aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk, específico para pequenas amostras. Em seguida submetidos análise ANOVA unidirecional, e um teste pós-teste de Tukey foi realizado no caso de detectar uma diferença entre os grupos, considerando um nível de significância de 5%.

No caso de comparações entre as médias de todos os grupos sedentários versus médias dos grupos exercitados foi aplicado o teste T. Todos os dados foram analisados pelo GraphPad Prism ® versão 5.01 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

REFERÊNCIAS

ABDULJABBAR, R.; AL-KAABI, M. M.; NEGM, O. H.; JERJEES, D.; MUFTAH, A. A.; MUKHERJEE, A.; GREEN. Prognostic and biological significance of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in luminal breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 150, n. 3, p. 511-522, 2015.

AFZALPOUR, M. E.; HOSSEIN TAHERI CHADORNESHIN, H.T.; FOADODDINI, M.; EIVARI, H.A. Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. **Physiology & Behavior**, v. 147, p.78-83, 2015.

AGUIAR, A. S.; STRAGIER, E.; DA LUZ SCHEFFER, D.; REMOR, A. P.; OLIVEIRA, P. A.; PREDIGER, R. D.; LANFUMEY, L. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. **Neuroscience**, v. 271, p. 56-63, 2014.

ALMEIDA, M. M.; DE SOUZA, Y. O.; LUQUETTI, S. C. P. D.; SABARENSE, C. M.; DO AMARAL CORRÊA, J. O.; DA CONCEIÇÃO, E. P. S.; GAMEIRO, J. Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 CLA mixture does not change body composition, induces insulin resistance and increases serum HDL cholesterol level in rats. **Journal of oleo science**, v. 64, n. 5, p. 539-551, 2015.

AMMINGER, G. P.; MECHELLI, A.; RICE, S.; KIM, S. W.; KLIER, C. M.; MCNAMARA, R. K.; SCHÄFER, M. R. Predictors of treatment response in young people at ultra-high risk for psychosis who received long-chain omega-3 fatty acids. **Translational psychiatry**, v. 5, n. 1, p. e495, 2016.

ANDERSON, M. E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. **Methods in Enzymology**. v. 113, p. 548-555, 1985.

ANDREOLI, M.F.; GONZALEZ, M.A; MARTINELLI, M.I; MOCCHIUTTI, N.O. BERNAL, C.A; Effects of dietary conjugated linoleic acid at high-fat levels on triacylglycerol regulation in mice, **Nutrition**, v. 25, p. 445–452, 2009.

ARAI, M.; IMAI, H.; KOUMURA, T.; YOSHIDA, M.; EMOTO, K.; UMEDA, M.; CHIBA, N.; NAKAGAWA, Y. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase plays a major role in preventing oxidative injury to cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 8, p. 4924-4933, 1999

A. O. A. C. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC INTERNATIONAL, 18 th ed. Gaithersburg, MD, USA. 2012.

BARONE, R.; MACALUSO, F.; CATANESE, P.; GAMMAZZA, A. M.; RIZZUTO, L.; MAROZZI, P.; ZUMMO, G. Endurance exercise and conjugated linoleic acid (CLA)

supplementation up-regulate CYP17A1 and stimulate testosterone biosynthesis. **PloS one**, v. 8, n. 11, p. e79686, 2013.

BARONE, R.; SANGIORGI, C.; MARINO GAMMAZZA, A.; D'AMICO, D.; SALERNO, M.; CAPPELLO, F.; MACALUSO, F. Effects of Conjugated Linoleic Acid Associated With Endurance Exercise on Muscle Fibres and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ activator 1 α Isoforms. **Journal of cellular physiology**, v. 232, n. 5, p. 1086-1094, 2017.

BARONE, R.; MACALUSO, F.; CATANESE, P.; GAMMAZZA, A. M.; RIZZUTO, L.; MAROZZI, P.; ZUMMO, G. Endurance exercise and conjugated linoleic acid (CLA) supplementation up-regulate CYP17A1 and stimulate testosterone biosynthesis. **PloS one**, v. 8, n. 11, p. e79686, 2013.

BASIRICÒ, L.; MORERA, P.; DIPASQUALE, D.; TRÖSCHER, A.; BERNABUCCI, U. Comparison between conjugated linoleic acid and essential fatty acids in preventing oxidative stress in bovine mammary epithelial cells. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 3, p. 2299-2309, 2017.

BASSAGANYA-RIERA, J.; HONTECILLAS, R. Dietary conjugated linoleic acid and n-3 polyunsaturated fatty acids in inflammatory bowel disease. **Clinic Nutrition & Metabolism Care**, v. 13, p. 569–573, 2010.

BATISTA-DE-OLIVEIRA, M.; LOPES, A.A.C.; GUEDES, R. C.A.; LOPES, A. A.C.; MENDES-DA-SILVA, R. Aging-dependent brain electrophysiological effects in rats after distinct lactation conditions, and treadmill exercise: A spreading depression analysis. **Experimental Gerontology**, v. 47, n. 6, p. 452-457, 2012.

BAUMAN, D.E.; LOCK, A. L. Conjugated linoleic acid: Biosynthesis and nutritional significance. **Advanced Dairy Chemistry. v. 2 Lipids**. Springer, Boston, MA. p. 93-136. 2006.

BHATTACHARYA, A.; RAHMAN, M. M.; SUN, D.; LAWRENCE, R.; MEJIA, W.; MCCARTER, R.; FERNANDES, G. The combination of dietary conjugated linoleic acid and treadmill exercise lowers gain in body fat mass and enhances lean body mass in high fat–fed male Balb/C mice. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 5, p. 1124-1130, 2005.

BERNARD, L.; SHINGFIELD, K.J.; ROUEL, J.; FERLAY, A. & CHILLIARD, Y. Effect of plant oils in the diet on performance and milk fatty acid composition in goats fed diets based on grass hay or maize silage. *British Journal of Nutrition*, v. 101, n. 2, p. 213-224, 2009.

BINDAL, M.P.; WADHWA, B.K. Compositional differences between goat milk fat

BLANKSON, H., STAKKESTAD, J. A., FAGERTUN, H., THOM, E., WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 12, p. 2943-2948, 2000.

BLANKSON, H.; STAKKESTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 12, p. 2943-2948, 2000.

BOMFIM, M. A. D. O uso do leite de cabras como alimento funcional. In: Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 4.; SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 10.; SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO ANIMAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1., 2006, Petrolina. Anais... Petrolina: Sociedade Nordestina de Produção Animal; Embrapa Semi-Arido, 2006. 1 **CD-ROM**., 2006.

BOMFIM, M.A.D.; QUEIROGA, R.C.R.E.; AGUILA, M.B.; MEDEIROS, M.C.; FISBERG, M.; RODRIGUES, M. T.; KARINA, M.O.; LANNA, D.P.D. Abordagem multisciplinar de P, D&I para o desenvolvimento de produto lácteo caprino com alto teor de CLA e alegação de propriedade funcional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p. 98-106, 2011.

BROCARD, P.S., BOEHME, F., PATTEN, A., COX, A., GIL-MOHAPEL, J., CHRISTIE, B.R. Anxiety- and depression-like behaviors are accompanied by an increase in oxidative stress in a rat model of fetal alcohol spectrum disorders: Protective effects of voluntary physical exercise. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 4, p.1607-18, 2012.

BROWN, J. M.; MCINTOSH, M. K. Conjugated linoleic acid in humans: regulation of adiposity and insulin sensitivity. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3041-3046, 2003.

BULUT, S.; BODUR, E.; COLAK, R.; TURNAGOL, H. Effects of conjugated linoleic acid supplementation and exercise on post-heparin lipoprotein lipase, butyrylcholinesterase, blood lipid profile and glucose metabolism in young men. **Chemico-biological interactions**, v. 203, n. 1, p. 323-329, 2013.

BUSIELLO, R. A.; SAVARESE, S.; LOMBARDI, A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. **Frontiers in physiology**, v. 6, p. 136, 2015.

CAMPOS, M.S.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M. NESTARES, T.; DÍAZ-CASTROA, J.; ROS, P.B.; ORTEGA, E.; LÓPEZ-ALLIAGA. Consumption of caprine milk improves metabolism of calcium and phosphorus in rats with nutritional ferropenic anemia. **International Dairy Journal**, v.17, p. 412-419, 2007.

CASEY, J. M.; BANZ, W. J.; KRUL, E. S.; BUTTEIGER, D. N.; GOLDSTEIN, D. A.; DAVIS, J. E.; Effect of stearidonic acid-enriched soybean oil on fatty acid profile and metabolic parameters in lean and obese Zucker rats. **Lipids in health and disease**, v.12, p.147, 2013.

CASTELLI, W. P. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. **The Canadian journal of cardiology**, v. 4, p. 5A-10A, 1988.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, National. Department of Health and Human Services. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996.

CHEN, S. C.; LIN, Y. H.; HUANG, H. P.; HSU, W. L.; HOUNG, J. Y.; HUANG, C. K. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on weight loss and body fat composition in a Chinese population. **Nutrition**, v. 28, n. 5, p. 559-565, 2012.

CHIELLINI, C.; BERTACCA, A.; NOVELLI, S.E.; GÖRGÜN, C.Z.; CICCARONE, A.; GIORDANO, A. Obesity modulates the expression of haptoglobin in the white adipose tissue via TNF α . **Journal Cell Physiology**. v. 190, p. 251-8, 2002.

CHO, K.; SONG, Y.; KWON, D. Conjugated linoleic acid supplementation enhances insulin sensitivity and peroxisome proliferator-activated receptor gamma and glucose transporter type 4 protein expression in the skeletal muscles of rats during endurance exercise. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 19, n. 1, p. 20, 2016.

CHO, J.; LEE, I.; KIM, D.; KOH, Y.; KONG, J.; LEE, S.; KANG, H. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice. **Journal of exercise nutrition & biochemistry**, v. 18, n. 4, p. 339, 2014.

CLARKSON, P. M; THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **Am J Clin Nutr**. v.72, n.2, p.637-46, 2000.

COLEMAN, H.; QUINN, P.; CLEGG, M.E. Medium-chain triglycerides and conjugated linoleic acids in beverage form increase satiety and reduce food intake in humans. **Nutrition research**, v. 36, n. 6, p. 526-533, 2016.

COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. . Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science**, v. 38, p. 307-321, 2009.

CRUZAT, V. F.; ROGERO, M. M.; BORGES, M. C.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev Bras Med Esporte**, v. 13, n. 5, p. 336-341, 2007.

DEGUIRE, J. R.; WEILER, H. A. Free fatty acid and triacylglycerol forms of CLA isomers are not incorporated equally in the liver but do not lead to differences in bone density and biomarkers of bone metabolism. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 88, n. 5, p. 399-403, 2013.

DISHMAN, R.K.; ARMSTRONG, R.B.; DELP, M.D Open-Field Behavior is not Related to Treadmill Performance in Exercising Rats. **Phystology Behavtor**, v. 43, p. 541-546, 1988.

DRINGEN, R e HIRRLINGER, J. “Glutathione pathways in the brain.” **Biological Chemistry**, v. 384, n. 4, p. 505–516, 2003.

DUCLOS, M., VIRALLY, M.L., DEJAGER, S. Exercise in the management of type 2 diabetes mellitus: what are the benefits and how does it work? **Physician and Sports medicine** v. 39, p. 98–106, 2011.

ERIKSEN, E.K.; VEGARUD, G.E.; LANGSRUD, T.; Effect of milk proteins their hydrolysates on *in vitro* immune responses. **Small Ruminant Research**, v. 79, p. 29–37, 2008.

EL-KADE, S. M. A; AL-JIFFRI, O.H. Exercise alleviates depression related systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease patients. **African health sciences**, v. 16, n. 4, p. 1078-1088, 2016.

ESPINOSA-DIEZ, C. V.; MENNERICH, M.D.; KIETZMANN, T. P.; SANCHEZ- PEREZ, CADENAS, S.; LAMAS, S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. **Redox Biology**. v. 6, n. 183–197, 2015.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R.J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free radical Biology and medicine**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.

FAGALI, N.; CATALÁ, A. Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. **Biophysical Chemistry**, v. 137, n. 1, p.56–62, 2008.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nation. Livestock Primary. Acesso: 12 de dezembro de 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>

FARIÑA, A.C.; HIRABARA, S.; SAIN, J.; LATORRE, M.L.; GONZÁLEZ, M.; CURI, R.; BERNAL. Conjugated linoleic acid improves glucose utilization in the soleus muscle of rats fed linoleic acid–enriched and linoleic acid–deprived diets. **Nutrition Research**, v. 34, n. 12, p. 1092-1100, 2014.

FEDOR, D. M.; ADKINS, Y.; NEWMAN, J. W.; MACKEY, B. E; KELLEY, D. S. Effect of docosahexaenoic acid on t 10, c 12-conjugated linoleic acid-induced changes in fatty acid composition of mouse liver, Adipose, and Muscle. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 11, n. 1, p. 63-70, 2013.

FERREIRA, L.; LISENKO, K.; BARROS, B.; ZANGERONIMO, M.; PEREIRA, L.; SOUSA, R. Influence of medium-chain triglycerides on consumption and weight gain in rats: a systematic review. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 1, p. 1-8, 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal biology Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRIDWALD, W. T; LEVY R. I; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of lowdensity lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FUKAO, K.; SHIMADA, K.; NAITO, H.; SUMIYOSHI, K.; INOUE, N.; IESAKI, T.; KUME, A.; KIYANAGI, T.; HIKI, M.; HIROSE, K.; MATSUMORI, R.; OHSAKA, H.; TAKAHASHI, Y.; TOYODA, S.; ITOH, S.; MIYAZAKI, T.; TADA, N.; DAIDA, H.; Voluntary exercise ameliorates the progression of atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory effects in apolipoprotein E-deficient mice. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**. v. 17, n. 12, p. 1226-1236, 2010.

FULK, L.J.; STOCK, H.S.; LYNN, A.; MARSHALL, J.; WILSON, M.A.; HAND, G.A. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *International Journal Sports Medicine*, v. 25, n. 1, p. 78–82, 2004.

GANDHI, S.; ABRAMOV, A.Y. Mechanism of Oxidative Stress in Neurodegeneration. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v.2012, p.11, 2012.

GAZIANO, J. M.; HENNEKENS, C. H.; O'DONNELL, C. J.; BRESLOW, J. L.; BURING, J. E. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. **Circulation**, v. 96, n. 8, p. 2520-2525, 1997.

GETANEH, G.; MEBRAT, A.; WUBIE, A.; KENDIE, H. Review on Goat Milk Composition and its Nutritive Value. **Journal of Nutrition and Health Sciences**. v. 3, n. 4, p. 401, 2016.

GOMES DA SILVA, S.; DONA, F.; FERNANDES, M.J.S. SCORZA, F.A. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. **Brain & Development**. v.32, p.137–142, 2010.

GOMEZ-CABRERA, M. C.; SALVADOR-PASCUAL, A.; CABO, F. B.; VINA, J. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training? **Free radical biology and medicine**, v. 86, p. 37-46, 2015.

GUSDON, A. M.; CALLIO, J.; DISTEFANO, G.; O'DOHERTY, R. M.; GOODPASTER, B. H.; COEN, P. M.; CHU, C. T. Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice. **Experimental gerontology**, v. 90, p. 1-13, 2017.

HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v.51, p.155-163, 2004.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British journal of pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231-255, 2004.

HASAN, M.; JOE, M.; ALSHUAIB, W. B.. Oxidative Stress Alters Physiological and Morphological Neuronal Properties. **Neurochem Res**, v. 32, p. 1169 – 1178, 2007.

HASKELL, W. L.; LEE, I. M.; PATE, R. R.; POWELL, K. E.; BLAIR, S. N.; FRANKLIN, B. A.; BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v. 116, n. 9, p. 1081, 2007.

HERNÁNDEZ-DÍAZ, G.; ALEXANDER-AGUILERA, A.; ARZABA-VILLALBA, A.; SOTORODRÍGUEZ, I.; GARCÍA, G. Effect of conjugated linoleic acid on body fat, tumornecrosis factor alpha and resistin secretion in spontaneously hypertensive rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. v. 82, p. 105–109, 2010.

HOROWITZ, J. F.; KLEIN, S. Lipid metabolism during endurance exercise. **The American journal of clinical nutrition**, v. 72, n. 2, p. 558s-563s, 2000.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de Dados Agregados. Tabela 3444: produção e venda de leite de cabra no ano nos estabelecimentos agropecuários por indicadores da agricultura familiar e não familiar – FAO. [Rio de Janeiro, 2015]. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3444#resultado> >. Acesso em: 18 abr. 2017.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de Dados Agregados. Pesquisas, variáveis e tabelas. Censo Agropecuário. [Rio de Janeiro, 2012]. Disponível em: . Acesso em: 20 jan. 2016.

ISANEJAD, A.; SARAF, Z. H.; MAHDAVI, M.; GHARAKHANLOU, R.; SHAMSI, M. M.; PAULSEN, G. The effect of endurance training and downhill running on the expression of IL-1b, IL-6, and TNF-a and HSP72 in rat skeletal muscle. **Cytokine**. v.73, p. 302- 308, 2015.

JACKA, F. N.; PASCO, J. A.; WILLIAMS, L. J.; LESLIE, E. R.; DODD, S.; NICHOLSON, G. C.; KOTOWICZ, M. A.; BERK, M. Lower levels of physical activity in childhood associated with adult depression. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v.14, n.3, p. 222–226, 2011.

JACKSON, M. J. Redox regulation of adaptive responses in skeletal muscle to contractile activity. **Free Radical Biology and medicine**. v. 47, n. 9, p. 1267-1275, 2009.

JACKSON, M. J.; VASILAKI, A.; MCARDLE, A. Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 13-17, 2016.

JENKINS^a, N. D.; BUCKNER, S. L.; BAKER, R. B.; BERGSTROM, H. C.; COCHRANE, K. C.; WEIR, J. P.; CRAMER, J. T. Effects of 6 weeks of aerobic exercise combined with conjugated linoleic acid on the physical working capacity at fatigue threshold. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 28, n. 8, p. 2127-2135, 2014.

JENKINS^b, N. D.; BUCKNER, S. L.; COCHRANE, K. C.; BERGSTROM, H. C.; GOLDSMITH, J. A.; WEIR, J. P.; CRAMER, J. T. CLA supplementation and aerobic exercise lower blood triacylglycerol, but have no effect on peak oxygen uptake or cardiorespiratory fatigue thresholds. **Lipids**, v. 49, n. 9, p. 871-880, 2014.

JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk: Review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 10, p. 1605-1630, 1980.

KANG, K.; LIU, W.; ABRIGHT.; PARK, Y.; PARIZA, M.W. Trans -10, cis-12 CLA inhibits differentiation of 3T3-L1 adipocytes and decreases PPAR gamma expression. **Biochemistry Biophysics Research Community**, v. 303, p. 995-799, 2009.

KEATING, S. E.; HACKETT, D. A.; PARKER, H. M.; O'CONNOR, H. T.; GEROFI, J. A.; SAINSBURY, A.; JOHNSON, N. A. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. **Journal of hepatology**, v. 63, n. 1, p. 174-182, 2015.

KENNEDY, A.; MARTINEZA, K.; SCHMIDTB, S. et al.; Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 21, n. 3, p. 171-179, 2010.

KIM, J. H.; KIM, J.; PARK, Y. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid enhances endurance capacity by increasing fatty acid oxidation and reducing glycogen utilization in mice. **Lipids**, v. 47, n. 9, p. 855-863, 2012.

KIM, J.H.; PARK, R.I.; PAN, J.H.; KIM, S.H.; YOON, H.G.; BAE, G.S.; LEE, H.S.; EOM, S.H.; KIM, Y.J. Dietary Conjugated Linoleic Acid Increases Endurance Capacity of Mice During Treadmill Exercise. **Journal of Medicinal Food**, v. 5, p. 1057–1060, 2010.

KIM, S.; KIM, K. I. The effects of exercise and conjugated linoleic acid intake on IGF-1 and pro-inflammatory cytokines in atrophied skeletal muscle of rats. **Integrative Medicine Research**, v. 2, p.166–173, 2013.

KIM, Y.; KIM, D.; PARK, Y. Conjugated linoleic acid (CLA) promotes endurance capacity via peroxisome proliferator-activated receptor δ -mediated mechanism in mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 38, p. 125-133, 2016.

KIRSCHVINK N, DE MOFFARTS B, LEKEUX B. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. **The Veterinary Journal**. v.177, p.178–91, 2008.

KRAWISZ, J. E.; SHARON, P.; STENSON, W. F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. **Gastroenterology**, v. 87, n. 6, p. 1344-1350, 1984.

KROLOW, R.; ARCEGO, D. M.; NOSCHANG, C.; WEIS, S. N.; DALMAZ, C. Oxidative Imbalance and Anxiety Disorders. **Current Neuropharmacology**, v.12, p.193-204, 2014.

LEE, S. R.; KHAMOUI, A. V.; JO, E.; ZOURDOS, M. C.; PANTON, L. B.; ORMSBEE, M. J.; KIM, J. Effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids with or without resistance training on muscle mass in high-fat diet-fed middle-aged mice. **Experimental physiology**, v. 102, n. 11, p. 1500-1512, 2017.

LEHNEN, T. E.; DA SILVA, M. R.; CAMACHO, A.; MARCAGENTI, A.; LEHNEN, A. M. A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and

energetic metabolism. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 36, 2015.

LI, R. R., MAO, J. F., YU, K.; WANG, L. L. Dietary or enteral medium-chain triglyceride usage in a Chinese general hospital. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 24, n. 3, p. 387-393, 2015.

LOCK, A. L.; HORNE, C. A. M.; BAUMAN, D.E.; SALTER, A.M. Butter Naturally Enriched in Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid Alters Tissue Fatty Acids and Improves the Plasma Lipoprotein Profile in Cholesterol-Fed Hamsters. **Journal of Nutrition**. v.135, n.8, p.1934-1939, 2005.

LÓPEZ-PLAZA, B.; BERMEJO, L. M.; KOESTER WEBER, T.; PARRA, P.; SERRA, F.; HERNÁNDEZ, M.; GÓMEZ-CANDELA, C. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid on weight control and body composition in healthy overweight people. **Nutricion hospitalaria**, v. 28, n. 6, 2013.

MA, A.J.; LENGI, M.L.; MCGILLIARD, D.E.; BAUMAN, B.A.; CORL. Short communication: Effect of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on activation of lipogenic transcription factors in bovine mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, v.97, n.8, p. 5001–5006, 2014.

MACALUSO, F.; BARONE, R.; CATANESE, P.; CARINI, F.; RIZZUTO, L., FARINA, F.; DI FELICE, V. Do fat supplements increase physical performance? **Nutrients**, v. 5, n. 2, p. 509-524, 2013.

MAKANAE, Y.; KAWADA, S.; SASAKI, K.; NAKAZATO, K.; ISHII, N. Vitamin C administration attenuates overload-induced skeletal muscle hypertrophy in rats, **Acta Physiologica**. v. 208, p.57–65, 2013.

MALINSKA, H.; HÜTTL, M.; OLIYARNYK, O.; BRATOVA, M.M.S.; KAZDOVA, M. Conjugated linoleic acid reduces visceral and ectopic lipid accumulation and insulin resistance in chronic severe hypertriacylglycerolemia. **Nutrition**, v. 31, p.1045–1051, 2015.

MANN, S.; BEEDIE, C.; JIMENEZ, A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. **Sports Medicine**, v. 44, n. 2, p. 211-221, 2014.

MARIN, D.P.; BOLIN, A.P.; CAMPOIO, T.R.; GUERRA, B.A.; OTTON, R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring. **International Immunopharmacology**, v.17, 462–470, 2013.

MARTEN, B.; PFEUFFER, M.; SCHREZENMEIR, J. Medium-chain triglycerides. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 11, p. 1374-1382, 2006.

MASON, S. A.; MORRISON, D.; MCCONELL, G. K.; & WADLEY, G. D. Muscle redox signalling pathways in exercise. Role of antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 29-45, 2016.

MERRY, T. L.; MCCONELL, G. K. Do reactive oxygen species regulate skeletal muscle glucose uptake during contraction? **Exercise and sport sciences reviews**, v. 40, n. 2, p. 102-105, 2012.

MAZZETTI, A. P.; FIORILE, M. C.; PRIMAVERA, A.; LO BELLO, M. Glutathione MERRY, T. L.; MCCONELL, G. K. Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. **Neurochemistry international**, v. 82, p. 10-18, 2015.

MIKKELSEN, K.; STOJANOVSKA, L.; POLENAKOVIC, M.; BOSEVSKI, M.; APOSTOLOPOULOS, V. Exercise and mental health. **Maturitas**, v. 106, p. 48-56, 2017.

MOON, H. S.; LEE, H. G.; SEO, J. H.; CHUNG, C. S.; KIM, T. G.; CHOI, Y. J.; & CHO, C. S. Antiobesity effect of PEGylated conjugated linoleic acid on high-fat diet-induced obese C57BL/6J (ob/ob) mice: attenuation of insulin resistance and enhancement of antioxidant defenses. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 187-194, 2009.

MOYLAN, S.; H.A. EYRE, H. A.; MAES, M.; BAUNE, B.T.; JACKA, F.N.; BERK, M. Exercising the worry away: How inflammation, oxidative and nitrogen stress mediates the beneficial effect of physical activity on anxiety disorder symptoms and behaviours. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37 p. 573–584, 2013.

MUMME, K; STONEHOUSE, W. Effects of medium-chain triglycerides on weight loss and body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 2, p. 249-263, 2015.

NG, F.; DODD, S.; BERK, M. The effects of physical activity in the acute treatment of bipolar disorder: a pilot study. **Journal of Affective Disorders**, v. 101, p. 259–262, 2007.

NOVELLI, E.L.B.; DINIZ, Y.S.; GALHARDI, C.M.; EBAID, G.M.X.; Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**. v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007

NUDDA, A.; MELE, M.; BATTACONE, G.; USAI, M. G.; MACCIOTTA, N. P. P. Comparison of conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of ewes and goats with the same dietary regimen. *Italian Journal of Animal Science*, v. 2, p. 515-517, 2003.

OLALLA, Manuel et al. Frações de nitrogênio do leite de cabra andaluz em comparação com tipos similares de leite comercial. **Food Chemistry**, v. 113, n. 3, p. 835-838, 2009.

OLIVEIRA, M.R; SILVESTRIN, R.B; MELLO, E; SOUZA, T; MOREIRA, J.C. Oxidative stress in the hippocampus, anxiety-like behavior and decreased locomotory and exploratory activity of adult rats: effects of sub acute vitamin A supplementation at therapeutic doses. **Neurotoxicology**, n. 6, p. 1191–9, 2007.

ÖZBEYLI, D.; SARI, G.; ÖZKAN, N.; KARADEMIR, B.; YÜKSEL, M.; KAYA, Ö. T. Ç.; ÇAKIR, Ö. K. Protective effects of different exercise modalities in an Alzheimer's disease-like model. **Behavioural Brain Research**, v. 328, p. 159-177, 2017.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Challenges with fats and fatty acid methods. **Journal of animal science**, v. 81, n. 12, p. 3250-3254, 2003.

PARACHIKOVA, A.; NICHOL, K.E.; COTMAN, C.W. Short-term exercise in aged Tg2576 mice alters neuroinflammation and improves cognition. **Neurobiology of Disease**, v.30, p.121–129, 2008.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; & PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, n. 8, p. 853-858, 1997.

PARK, Y.; PARIZA, M.W. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoléico acid (CLA). **Food Research International**, v. 40, p. 311-329, 2007.

PARK, Y.; TERK, M.; PARK, Y. Interaction between dietary conjugated linoleic acid and calcium supplementation affecting bone and fat mass. **Journal of bone and mineral metabolism**, v. 29, n. 3, p. 268-278, 2011.

PARODI, P.W. Anti-cancer agents in milk fat. **Australian Journal of Dairy Technology** v.58, p.114-118, 2003.

PAULSEN, G.; CUMMING, K.T.; HOLDEN, G.; HALLEN, J.; RONNESTAD, B. R.; SVEEN, O.; SKAUG, A.; PAUR, I.; BASTANI, N.E.; OSTGAARD, H.N.; BUER, C.; MIDTTUN, M.; FREUCHEN, F.; WIIG, H.; ULSETH, E.T.; GARTHE, I.; BLOMHOFF, R.; BENESTAD, H.B.; RAASTAD, T. Vitamin C and supplementation hampers cellular

adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial. **The Journal of physiology**, v. 592, n. 8, p. 1887-1901, 2014

PELLEGRINI, N.; SIMONETTI, P.; GARDANA, C.; BRENNNA, O.; BRIGHENTI, F.; PIETTA. Polyphenol content and total antioxidant activity of vini novelli (young red wines). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 3, p. 732-735, 2000.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-67, 1985.

PENEDO, L.A.; NUNES, J.C.; GAMAC, M.S. et al.; Intake of butter naturally enriched with cis9, trans11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 12, p. 2144-2151, 2013

PINGITORE, A.; LIMA, G. P. P.; MASTORCI, F.; QUINONES, A.; IERVASI, G.; VASSALLE, C. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. **Nutrition**, v. 31, n. 7, p. 916-922, 2015.

PUSCEDDUA, M. M.; KELLY, P.; ARIFFINA, N.; CRYAN, D. J. F.; CLARKE, G.; DINAN, T.G. n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: Effects of early life stress. **Psychoneuroendocrinology**, v. 58, p. 79-90, 2015.

RACHETTI, A. L. F.; ARIDAA, R. M.; PATTI, C. L.; ZANIN, K. A.; FERNANDES-SANTOS, F.; FRUSSA-FILHO, R.; GOMES DA SILVA, S.; SCORZAD, S. A.; CYSNEIROS, R.M. Fish oil supplementation and physical exercise program: Distinct effects on different memory tasks. **Behavioural Brain Research**, v. 237 p. 283– 289, 2013.

RADAK, Z.; TOLDY, A.; SZABO, Z.; SIAMILIS, S.; NYAKAS, C.; SILYE, G.; JAKUS, J.; GOTO, S. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. **Neurochemistry International**, v. 49, p. 387–392, 2006.

RADAK, Z.; MARTON, O.; NAGY, E.; KOLTAI, E.; & GOTO, S. The complex role of physical exercise and reactive oxygen species on brain. **Journal of Sport and Health Science**, v. 2, n. 2, p. 87-93, 2013.

RADAK, Z.; SUZUKI, K.; HIGUCHI, M.; BALOGH, L.; BOLDOGH, I.; KOLTAI, E. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 187-196, 2016.

RAHMAN, M. M.; HALADE, G. V.; EL JAMALI, A.; FERNANDES, G. Conjugated linoleic acid (CLA) prevents age-associated skeletal muscle loss. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 383, n. 4, p. 513-518, 2009.

REEVES, P.G; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN- 93. Purified diers for laboratory rodents: final reportof the american institute of nutrition and hoe writing comitee on the reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. **Journal Nutrition**, v. 123, n. p.1939-1951, 2003.

REYNOLDS, A.; LAURIE, C.; MOSLEY, R.L.; GENDELMAN, H. E. Oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative disorders. **Int Rev Neurobiol**, v. **82**, p. 297–325, 2007.

RIBEIRO, A. S.; PINA, F. L. C.; DODERO, S. R.; SILVA, D. R.; SCHOENFELD, B. J.; SUGIHARA, P.; TIRAPGUI, J. Effect of Conjugated Linoleic Acid Associated With Aerobic Exercise on Body Fat and Lipid Profile in Obese Women: A Randomized, Double-Blinded, and Placebo-Controlled Trial. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 26, n. 2, p. 135-144, 2016.

RODRIGUES, R.; SOARES, J.K.B.; GARCIA, G.; BOMFIM, M.; QUEIROGA, R.C.R.E. Goat Milk Fat Naturally Enriched with Conjugated Linoleic Acid Increased Lipoproteins and Reduced Triacylglycerol in Rats. **Molecules**, n. 19, p. 3820-3831, 2014.

ROH, H.; CHO, S.; SO, W. Y. Obesity promotes oxidative stress and exacerbates blood-brain barrier disruption after high-intensity exercise. **Journal of Sport and Health Science**, v. 6, n. 2, p. 225-230, 2016.

SACKS, F. M.; LICHTENSTEIN, A. H.; WU, J. H.; APPEL, L. J.; CREAGER, M. A.; KRIS-ETHERTON, P. M.; STONE, N. J. Dietary fats and cardiovascular disease: a presidential advisory from the American Heart Association. **Circulation**, v. 136, n. 3, p. e1-e23, 2017.

SALGADO, J. M.; FERREIRA, T. R. B., DONADO-PESTANA, C. M., DE ALMEIDA, O. C., DAS NEVES, A. M. R., MANSI, D. N., & DIAS, C. T. D. S. Conjugated linoleic acid combined with physical activity reduces body fat accumulation but does not modify lean body mass in male and female Wistar rats. **Journal of medicinal food**, v. 15, n. 4, p. 406-412, 2012.

SALIM, S.; SARRA, N.J, TANEJA, M.; SAHA, K.; et al. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 208, p. 545–552, 2010.

SCALERANDI, M. V.; AIDA GONZALEZ, M.; SAÍN, J.; FARIÑA, A. C.; BERNAL, C. A. Effect of conjugated linoleic acid mixtures and different edible oils on body composition and lipid regulation in mice. **Nutricion Hospitalaria**, v. 29, n. 3, 2014.

SHADMAN, Z.; TALEBAN, F. A.; SAADAT, N.; HEDAYATI, M. Effect of conjugated linoleic acid and vitamin E on glycemic control, body composition, and inflammatory markers in overweight type2 diabetics. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v. 12, n. 1, p. 42, 2013.

SHEN, W.; BALDWIN, J.; COLLINS, B.; HIXSON, L.; LEEB, L. M.; HERBERGB, T.; STARNES, J.; COONEY, P. CHUANG, C. H.; HOPKINS, H.; REIDA, T.; GUPTA, T. MCINTOSH, M. Low level of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases adiposity and increases browning independent of inflammatory signaling in overweight Sv129 mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, p. 616–625, 2015.

SHINOHARA, H.; FUKUMITSU, H.; SETO, A.; FURUKAWA, S. Medium-chain fatty acid-containing dietary oil alleviates the depression-like behaviour in mice exposed to stress due to chronic forced swimming. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 601- 606, 2013.

SOARES, J.K.B.; MELO, A.P.R.; MEDEIROS, M.A.C.; QUEIROGA, R.C.R.E.; BOMFIM, M.A.D. et al.; Anxiety behavior is reduced, and physical growth is improved in the progeny of rat dams that consumed lipids from goat milk: An elevated plus maze analysis. **Neuroscience Letters**, n. 552, p. 25– 29, 2013.

STANFORD, K.I.; GOODYEAR, L. J. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. **Advances in physiology education**, v. 38, n. 4, p. 308-314, 2014.

STEENKAMP, L. R.; HOUGH, C. M.; REUS, V. I.; JAIN, F. A.; EPEL, E. S.; JAMES, S. J.; LINDQVIST, D. Severity of anxiety—but not depression—is associated with oxidative stress in Major Depressive Disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 219, p. 193-200, 2017.

STUNKARD, A. J.; WADDEN, T. A. Obesity: theory and therapy. 1993. Food and Agriculture Organization of the US. <http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=XF2015005094>

SUKHIJA, P. S.; PALMQUIST, D. L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, n. 6, p. 1202-1206, 1988.

SWIFT, D. L.; JOHANNSEN, N. M.; LAVIE, C. J.; EARNEST, C. P.; CHURCH, T. S. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 56, n. 4, p. 441-447, 2014.

TAJMANESH, M.; ARYAEIAN, N.; HOSSEINI, M.; MAZAHARI, R.; KORDI, R. Conjugated linoleic acid supplementation has no impact on aerobic capacity of healthy young men. **Lipids**, v. 50, n. 8, p. 805-809, 2015.

TEIXEIRA, A.M.; TREVIZOL, F.; COLPO, G.; GARCIA, S.C. Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: behavioral and antioxidant evaluations. **Pharmacol Biochem Behav**, n. 88, n. 4, p. 465– 472, 2008.

TEIXEIRA, A. M.; PASE, C. S.; BOUFLEUR, N.; ROVERSI, K.; BARCELOS, R. C. S.; BENVEGNÚ, D. M.; DOLCI, G. S. Exercise affects memory acquisition, anxiety-like symptoms and activity of membrane-bound enzyme in brain of rats fed with different dietary fats: impairments of trans fat. **Neuroscience**, v. 195, p. 80-88, 2011.

TEIXEIRA K. A.; TREVIZOL, A. F.; DIAS, V. T.; BARCELOS, R. C. S.; PASE, C. S.; ROVERSI, CAREN, K.; ANTONIAZZI, T. D.; BOUFLEUR, N.; BENVEGNÚ, D. M.; Toxicological aspects of trans fat consumption over two sequential generations of rats: Oxidative damage and preference for amphetamine. **Toxicology Letters**, v.232, p. 58–67, 2015.

TERASAWA, N.; OKAMOTO, K.; NAKADA, K; MASUDA, K. Effect of Conjugated Linoleic Acid Intake on Endurance Exercise Performance and Anti-fatigue in Student Athletes. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 7, p. 723-733, 2017.

TOWNSEND, D.M.; TEW, K. D.; TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, n. 3, p. 145-155, 2003.

TSAO, J. P.; LIAO, S. F.; KORIVI, M.; HOU, C. W.; KUO, C. H.; WANG, H. F.; CHENG, I. S. Oral conjugated linoleic acid supplementation enhanced glycogen resynthesis in exercised human skeletal muscle. **Journal of sports sciences**, v. 33, n. 9, p. 915-923, 2015.

VADIVEL, V.; PUGALENTHI, M. Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. **Tropical animal health and production**, v. 42, n. 7, p. 1367-1376, 2010.

VAN PRAAG, H.; KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. **Nature neuroscience**, v. 2, n. 3, p. 266-270, 1999.

VANHEES, L.; GELADAS, N.; HANSEN, D.; KOUIDI, E.; NIEBAUER, J.; REINER, Ž.; BÖRJESSON, M. Importance of characteristics and modalities of physical activity and exercise in the management of cardiovascular health in individuals with cardiovascular risk factors: recommendations from the EACPR (Part II). **European journal of preventive cardiology**, v. 19, n. 5, p. 1005-1033, 2012.

VARAMENTI, E. I.; KYPAROS, A.; VESKOUKIS, A. S.; BAKOU, M.; KALABOKA, S.; JAMURTAS, A. Z.; KOUTEDAKIS, Y.; KOURETAS, D. Oxidative stress, inflammation and angiogenesis markers in elite female water polo athletes throughout a season. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 3–8, 2013.

VASSALLE, C.; PINGITORE, A.; DE GIUSEPPE, R.; VIGNA, L.; BAMONTI, F. **Biomarkers to estimate bioefficacy of dietary/supplemental antioxidants in sports**. In press in : "Antioxidants in Sport Nutrition". Ed CRC Press/Taylor & Francis Group, Cap.16, p. 255-72. 2014.

VOLLERT, C.; ZAGAAR, M.; HOVATTA, I.; TANEJA, M.; VUA, A.; DAO, A.; LEVINE, A.; ALKADHI, A.; SALIMA, S. Exercise prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: Potential role of oxidative stress mechanisms. **Behavioural Brain Research**, v. 224, n. 2, p. 233-240, 2011.

WANG, D.; MITCHELL, E. S. Cognition and synaptic-plasticity related changes in aged rats supplemented with 8-and 10-carbon medium chain triglycerides. **PloS one**, v. 11, n. 8, p. e0160159, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Recommendations on Physical Activity for Health**, 2010 Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44399/1/9789241599979_eng.pdf . Acesso em 15 de novembro de 2015.

WILLETT, W. C. Dietary fats and coronary heart disease. **Journal of internal medicine**, v. 272, n. 1, p. 13-24, 2012.

WU, S. Y.; WANG, T. F.; YU, L.; JEN, C. J.; CHUANG, J. I.; WU, F. S.; WU, C. W.; KUO, Y. M. Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.25, p.135–146, 2011.

YANG, B.; CHEN, H.; STANTON, C.; ROSS, R.R.; ZHANG, H.; CHEN, Y. Q.; CHEN, W. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. **Journal of Functional Foods**, v.15, p. 314–325, 2015.

YI, C-X.; MASSADI, O.A.L.; DONELAN, E.; LEHTI, D.; WEBER, J.; RESS, C.; TRIVEDI, C.; MÜLLER, T.D.; WOODS, S.C.; HOFMANN, S. M. Exercise protects against high-fat diet-induced hypothalamic inflammation. **Physiology & Behavior**. v.106, n. 4, p. 485-490, 2012.

ZHANG, Y.; QING, X. U.; LIU, Y. H.; ZHANG, X. S.; JIN, W. A. N. G.; YU, X. M.; XUE, C. Y. Medium-chain triglyceride activated brown adipose tissue and induced reduction of fat mass in C57BL/6J mice fed high-fat diet. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 28, n. 2, p. 97-104, 2015.

ZHANG, X.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; WANG, J; XU, Q.; YU, X.; XUE, C. Medium-chain triglycerides promote macrophage reverse cholesterol transport and improve atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed a high-fat diet. **Nutrition Research**, v. 36, n. 9, p. 964-973, 2016.

ZIMMERMANN, R.; STRAUSS, J. G.; HAEMMERLE, G.; SCHOISWOHL, G.; BIRNER-GRUENBERGER, R.; RIEDERER, M.; ZECHNER, R. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. **Science**, v. 306, n. 5700, p. 1383-1386, 2004.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta tese estão apresentados em forma de Artigo Científico submetidos em periódicos de impacto na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ARTIGO I: Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of sedentary adults rats.

(Submetido ao periódico: Food Function. Fator de impacto: 3.24. Qualis A1)

ARTIGO II: Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when associated with exercise.

(Submetido ao periódico: Journal Functional Food, Fator de impacto: 3.14. Qualis A1)

ARTIGO I

LIPIDS FROM GOAT MILK REDUCES ANXETY BEHAVIOR AND OXIDATIVE
STRESS IN THE BRAIN OF SEDENTARY ADULTS RATS.

(Submetido ao periódico: Journal Food Function. Fator de impacto: 3.93. Qualis A1)

**Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of
sedentary adults rats**

Mayara Queiroga Barbosa* - *Federal University of Campina Grande* -

mayara.queirogab@gmail.com

Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo - *Federal University of Campina Grande*

camilacarolina01@gmail.com -

Louise Iara Gomes Oliveira - *Federal University of Campina Grande*

iara_gomes26@hotmail.com

Jaielison Yandro Pereira Silva - *Federal University of Campina Grande*

jaielison@hotmail.com

Suedna Costa - *Federal University of Campina Grande*

suednacosta@gmail.com

Daline Santos Fernandes Araújo - *Federal University of Rio Grande do Norte*

daline_araujo@yahoo.com.br

Gerlane Coelho Bernardo Guerra - *Federal University of Rio Grande do Norte*

gerlaneguerra@hotmail.com

Rita de Cássia Ramos Egypto Queiroga - *Federal University of Paraíba*-

rcqueiroga@uol.com.br

Marco Aurélio Delmonds Bomfim – *EMBRAPA – Caprinos e ovinos*

marco.bomfim@embrapa.br

Juliana Kessia Barbosa Soares - *Federal University of Campina Grande*

julianakessia2@gmail.com

*** Correspondence to:** Mayara Queiroga Barbosa - *Federal University of Campina Grande*,
Education and Health Center, Sítio Olho D'Água, Cuité, PB, CEP: 58175000 Brazil,
Tel: +55 (083) 3372-1900, e-mail: mayara.queirogab@gmail.com

ABBREVIATION

CLA, conjugated linoleic acid; OF, Open Field; ROS, reactive oxygen species; EPM,
Elevated Plus Maze; MDA, malonyldialdeido; GSH, Glutathione ; PUFAs, polyunsaturates
fatty acid; SO, soybean oil; DTNB, dithiobisnitrobenzoic acid; MCFA medium chain fatty
acids; MCT, medium chain triglycerides; MUFA, monounsaturated fatty acid;

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of goat's milk fat associated with physical training on markers of oxidative stress and anxiety behavioral in the brain of sedentary rats. Adults male rats were randomly into six groups (n = 10) each: control sedentary (CON) and exercise (CON-EX); goat's milk fat sedentary (GM) and exercised (GM-EX); goat's milk fat enriched with CLA sedentary (GM-CLA) and exercised (GM-CLA-EX). The exercised groups were submitted to treadmill running during four weeks. Behavioral anxiety parameters were evaluated with the Open Field (OF) and Elevated Plus Maze (EPM) tests and MDA and GSH levels in the brain. Data were analyzed with – One-way ANOVA, followed by Tukey post-test or Kruskal-Wallis, considering $p < 0.05$. Rearing was higher in GM-CLA-EX compared to the GM-CLA. Grooming was increased in CON-EX, GM-EX and GM-CLA-EX, compared to CON, GM and GM-CLA ($p < 0.05$), respectively. The frequency of entries into the open arms and permanence time in the open arms was higher in sedentary groups ($p < 0.05$). MDA levels in the brain were lower in GM compared to CON ($p < 0.05$). MDA was increased in exercised animals ($p < 0.05$). The consumption of CLA-enriched goat's milk fat was not able to promote behavioral changes in the animals but promoted a beneficial effect through an increase in cerebral GSH levels. However, goat's milk fat showed a potential effect to reduce oxidative stress, which was associated with reduction in anxiety behavior. But when physical training was associated with the consumption of these diets, the animals increased the symptoms of anxiety and increased MDA, reversing the beneficial effect of goat's milk fat.

Keywords: lipids; goat's milk fat; oxidative stress; anxiety

INTRODUCTION

Goat's milk plays an important role in human nutrition, since it is a good source of lipids that can exert effects on development and neural function^{1,2}. Fatty acid is a source of different fatty acids such as saturated and polyunsaturated^{3,4}. Among the polyunsaturates (PUFAs), there is conjugated linoleic acid (CLA), which comprises a mixture of geometric and positional isomers with double bonds that vary in the carbon chain of the linoleic acid molecule⁵ and play an important role in disease prevention⁶. In addition, it presents protective effects on oxidative stress and lipid peroxidation in animal models. CLA can cross the blood-brain barrier, thus depositing itself in brain tissue^{1,7,8}. The brain is very susceptible to oxidative stress^{9,10} because it is a major oxygen consumer and consists mostly of lipids and modest levels of antioxidants¹¹. This oxidative stress can compromise the integrity of the brain membranes, altering the functioning of neurotransmitters and using cell death^{9,10,12}.

The oxidative state of the brain also increases its susceptibility to neurodegenerative diseases, depression and anxiety^{13,14}. Anxiety is a psychiatric disorder that is related to a loss of energy, difficulty concentrating, sleep disturbances, suicide rates and poor response to antidepressant treatment¹⁵. A study of rats during gestation with goat's milk fat observed a reduction in anxiety in the offspring¹. In adulthood, animals treated with EPA/DHA-dependent dose had a reduction in anxiety¹⁶. Moreover, prolonged intake of a high saturated and monounsaturated fat diet did not affect anxiety behavior¹⁷.

Some studies have shown that physical exercise is also capable of reducing oxidative damage in the brain and peripheral tissues¹⁸, and when associated with PUFA intake has shown reduced anxiety parameters in animals, also improving the neuroprotection system and neuronal plasticity of adult rats^{20,21}.

Based on the above, the hypothesis that the association of goat milk lipid consumption with the practice of physical exercise modulates parameters of anxiety and oxidative stress in

rats. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of diets with goat's milk fat with different levels of CLA associated with physical training on the parameters of anxiety and oxidative stress in brain tissue in exercised rats.

MATERIAL AND METHODS

Goat`s milk fat

Goat milk lipids used in the present study were provided by the Brazilian Agricultural Research Company - *EMBRAPA*. Goat`s milk fat with a normal source of CLA and a goat`s milk fat with increased source of CLA were used. In order to obtain goat`s milk fat with higher levels of CLA, goats received a diet containing 3.5% of soybean oil during 20 days. Next, the goat milk was collected and skimmed for collecting the goat milk fat, which was frozen and stored until preparation of the experimental diet and was then offered to the rats ²².

Identification of fatty acids from goat milk

The soybean oil (SO) and goat milk lipid samples were analyzed for their lipid profile in the Laboratory of Animal Production Systems of the Center for Interdisciplinary Animal Health Research of the Univerisity of Lisboa. The transesterification procedure of the samples with adaptations^{23,24}. The fatty acids were analyzed as methyl esters by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) using a Shimadzu QP2010-plus chromatograph (Shimadzu, Kyoto, Japan) equipped with a column (SP-2560, 100 m × 0.25 mm × 0.20 µm, Supelco, Bellefonte, PA, USA). The injector and detector were maintained at 250 °C and 280 °C respectively during the analysis. Helium was used as the entrainment gas at a constant flow rate of 1 mL/min and 1 µL of sample was injected. The oven temperature was programmed to start at 50 °C, increasing by 50 °C every minute until reaching 150 °C, remaining for 20

minutes, then increasing by 1°C every minute until it reached 190°C, then increasing 2°C every minute until reaching 220°C, and remaining at that temperature for 30 minutes. The identified fatty acids were expressed as percentages and are shown in **Table 1**.

Table 1. Fatty acid profile of the different fat sources (%)

Composição	Nº de carbonos	SO	GM	GM-CLA
Butiric acid	C4:0	-	2.29	2.61
Caproic acid	C6:0	-	2.75	2.27
Caprylic acid	C8:0	-	3.27	1.84
Capric acid	C10:0	-	11.14	5.28
Lauric acid	C12:0	-	4.37	1.95
Myristic acid	C14:0	0.42	10.36	6.15
Pentadecylic acid	C15:0	-	1.37	1.01
Palmitic acid	C16:0	17.1	25.52	21.01
Margaric acid	C17:0	0.34	0.80	0.64
Stearic acid	C18:0	5.93	12.79	21.17
Σ SFA		23.79	75.52	64.86
Palmitoleic acid	C16:1	-	0.68	0.59
Heptadecenoic acid	C17:1	-	0.16	0.10
Oleic acid	C18:1	28.53	21.18	30.82
Eicosenoic acid	C20:1	-	0.04	0.05
Σ MUFA		28.53	22.15	31.57
Linoleic acid	C18:2	42.56	1.59	1.52
α-linolenic acid	C18:3	4.89	0.23	0.16
Dihomo-γ-linolenic acid	C20:3n-6	-	0.02	0.01
Arachidonic acid	C20:4n-6	-	0.16	0.13
Eicosapentaenoic acid	C20:5n-3	-	0.02	0.01
Clupanodonic acid	C22:5n-3	-	0.05	0.04
Docosahexanoic acid	C22:6	-	0.02	0.03
CLA- cis-9, trans-11	-	-	0.34	1.69
Σ PUFA		47.45	2.43	3.58

Trans	-	1.54	7.31
MUFA:SFA	1.2:1	1:3.4	1:2
PUFA:SFA	2:1	1:3.1	1:1.8

SO: soybean oil; GM: goat's milk fat; GM-CLA: goat's milk fat with increased CLA content

Animals

Male Wistar rats (70 days of age/230 – 280 g) were obtained from the Department of Nutrition of Federal University of Campina Grande, Brazil and housed in individual cages under standard temperature (22 ± 1 °C), humidity ($65\% \pm 5\%$) and a light/dark cycle of 12 h/12 h (artificial lights, 6:00 a.m. to 6:00 p.m.). The rats were then randomly divided into six groups (with 10 animals each) and fed for 4 weeks with experimental diets formulated with different lipid sources in accordance with the allocated group: control group sedentary (CON) and exercised (CON-EX) with a standard diet with soybean oil; goat`s milk fat group sedentary (GM) and exercised (GM-EX); goat`s milk fat group with increased source of CLA sedentary (GM-CLA) and exercised (GM-CLA-EX). The diets are shown in **Table 2** and were formulated based on recommendations of the American Institute of Nutrition - AIN-93M²⁵ with components supplied by Rhoister (São Paulo, Brazil), only differing in the type of fat added. The rats received food and water *ad libitum* during the whole experiment. All procedures were previously approved by the Animal Research Ethics Committee of the Federal University of Campina Grande protocol no. CEP 142/2014.

Table 2: Composition of experimental diets

Components (g/100g)	CON	GM	GM-CLA
----------------------------	------------	-----------	---------------

Casein	14.0	14.0	14.0
Fat goat milk	-	5.0	-
Fat goat milk- CLA	-	-	5.0
Soy oil	5.0	-	-
Cellulose	5.0	5.0	5.0
Vitaminic Mix	1.0	1.0	1.0
Mineral Mix	3.5	3.5	3.5
D L Cystine	0.18	0.18	0.18
Bitartarato de Colina	0.25	0.25	0.25
Sucrose	10.0	10.0	10.0
Cornstarch	60.27	60.27	60.27
VET (kcal)	340 kcal	340 kcal	340 kcal

SO: soybean oil; GM: goat's milk fat; GM-CLA: goat's milk fat with increased CLA content

Physical training

In the week preceding the physical training period, the animals were adapted to treadmill running at speeds and progressive times to classify training performance. For training and selection of runners and sedentary animals, the animals performance on the treadmill was classified according to the scale of 1 to 5²⁶, using the following parameters: 1 - refused to run; 2 - below average runner (sporadic, stop and go, wrong direction); 3 - average runner; 4 - above-average runner (consistent runner occasionally falls back on treadmill); 5 - Good runner (consistently keeps a head on the treadmill). Animals with an average score equal to or greater than 3 were included in the subject group. The animals were then submitted to the aerobic physical exercise protocol five days / week (Monday to Friday) for four weeks (**Table 3**) in the following four weeks on a motorized treadmill (Insight EP-131, 0° inclination) adapted^{27, 28}. The sedentary groups remained on the disabled treadmill with time and weekly sessions similar to the exercised group.

Table 3: Aerobic Training Protocol

	Time (min)	Speed (m/min)
1 ^o Day adaptation	5	10
2 ^o Day adaptation	5	11
3 ^o Day adaptation	8	12
4 ^o Day adaptation	8	13
5 ^o Day adaptation	10	14
1 ^a week	20	15
2 ^a week	30	18
3 ^a week	40	20
4 ^a week	50	20

Source: Adaptation ^{27, 28}

BEHAVIORAL TESTS

After four weeks of physical training, after resting for 48 hours, all animals were submitted to tests that measured the behavior of anxiety. The open field test was performed after the rest of 48 hours of the last session and the Labeled High Cross Test was performed the next day (24 hours) after the Open Field test. The tests were performed in the morning, from 6:00 a.m. to 10:00 p.m

Open field Test

The open field is an instrument to test anxiety behavior and exploratory activity to verify the effects of unfamiliar environments on emotionality in rats.²⁹ The animals were placed in the Open Field in the morning (6:00 a.m.), consisting of a circular metallic arena (painted white) delimited by white walls with the upper part open. The arena floor is divided into 17 fields (with lines painted black), 3 concentric circles (with diameter 1m) that are subdivided into a total of 16 segments and a central circle. Each animal was placed in the center of the device and observed for 10 minutes. The following parameters were evaluated: ambulation (number of crosses of the segments by the animal with the four legs); number of rearing behavior and time of grooming behavior. The sessions were filmed with a video camera installed on the ceiling. The videos were subsequently analyzed, and the behavioral parameters identified and recorded.

Elevated Plus Maze (EPM)

EPM is commonly used as an unconditioned model of rodent anxiety²⁹. The test consists of placing the animal in an EPM raised from the ground, formed by two closed arms with walls and two opened arms, which were perpendicular to the closed arms.

The test was performed 24 hours after the Open Field test in the morning at 6:00 with all the experimental groups. At the beginning of the test session, the animal was placed in the central square of the EPM with its head oriented to one of the closed arms. The sessions were filmed with a video camera installed on the ceiling in low light. Afterwards, the following behavioral parameters were analyzed: number of entrances and time spent in the open arms, time spent in the central area and number of head dips. Animals that fell from the EPM were returned to their home cage and excluded from subsequent analyses. The animals' behavioral reactions were recorded using a camcorder connected to a computer during the 5-min session.

Eutanasia and tissue preparation

After behavioral tests the animals were submitted to the last session (32nd day of experiment) of physical training of 50 min with a speed of 20m / min. The animals remained in rest for 24 hours. Subsequently, the animals were anesthetized with Ketamine Hydrochloride + Xilazine Hydrochloride (1 mL / kg body weight). Euthanasia was performed through the section of the carotid arteries and jugular veins under general anesthesia and, therefore, unconscious. Then, decapitation was obtained to obtain strains of the cerebral cortex were isolated, weighed and stored at -80 ° C for further analysis.

MDA levels in the brain

The brain samples were suspended in 1:5 (w/v) TrisHCl buffer and scribed for 15 seconds on an ice-cold plate. The resulting suspension was homogenized for 2 minutes with a Potter automatic homogenizer and centrifuged at 2500 xg and 4 °C for 10 min. The upernatants were used to determine the MDA content³⁰. The results were expressed as MDA nmol/g tissue.

Glutathione levels in the brain

Brain samples that had been frozen with 1 mL of trichloroacetic acid were thawed and cut with scissors for 15 seconds on an ice-cold plate. The resulting suspension was subsequently diluted to a final ratio of 1:20 (w/v) and homogenized for 2 min with a Potter automatic homogenizer and centrifuged at 2000 xg and 4 °C for 5 min. The supernatants were then centrifuged at 9000 xg and 4 °C for 5 min. Supernatants were used to determine total glutathione. The total GSH present in the sample was determined by its incubation with dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB). The newly formed GSH oxidizes resulting in a continuous cycle in which the DTNB reduction rate is proportional to the amount of total glutathione with the consequent increase in absorbance at 412 nm. Total glutathione (GSH) were expressed as nmol/g wet tissue³¹.

Statistical Analysis

The data were expressed in mean and mean standard error (SEM). To verify the normality curve the Shapiro-Wilk test, specific for small samples, and submitted to One-way ANOVA, and a Tukey post-test was performed in the case of detecting a difference between the groups, considering a significance level of 5%. The GraphPad Prisma statistical program was used to analyze the data.

RESULTS

Behavioral tests

Open field

No significant differences were found for the ambulation parameter ($p > 0,05$). For the Rearing behavior (**Fig. 1A**), there was no statistical difference between the sedentary groups ($p > 0,05$), but the GM-CLA-EX exercised group had a higher *rearing* number compared to GM-CLA ($p < 0.05$). With respect to Grooming behavior (**Fig 1B**), this parameter was elevated in the CON-EX (38.4 ± 10.6), GM-EX (51.7 ± 19.6) and GM-CLA-EX ($50, 5 \pm 12.3$) compared to their respective sedentary groups CON (26.6 ± 9.9), GM (27.0 ± 7.8) and GM-CLA (27.4 ± 9.1) ($p < 0.05$), but there was no difference between the exercised groups among themselves.

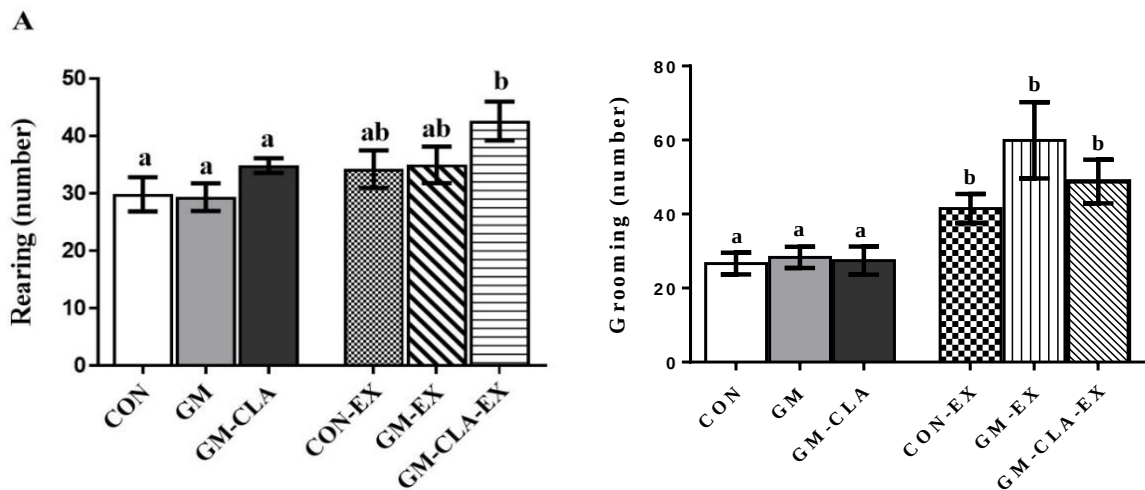


Figure 1: Behavioral test using Open Field. Rearing (A) and Grooming (B). Data presented in Mean $\pm$ SEM, $n = 10$ /group. Different letters between bars means significant differences between groups ($p < 0.05$). ANOVA analysis followed by Tukey test. Control sedentary (CON) and exercised group (CON-EX); Goat milk lipids sedentary (GM) and exercised group (GM-EX); CLA sedentary (GM-CLA) and exercised group (GM-CLA-EX)

Elevated Plus Maze

As show in Figure 2, there was no statistical difference among the sedentary groups ($p > 0,05$) for the number of entries in the open arms (**Fig. 2A**). However, the CON (1.5 ± 0.2), GM (1.5 ± 0.2), and GM-CLA (1.0 ± 0.1) groups showed a higher frequency of open arms inputs compared to the respective groups COM-EX, GM-EX, GM-CLA-EX ($p < 0.05$), that did not enter the open arms. The time spent in the open arms (**Fig. 2B**) was significantly higher in the GM (5.1 ± 0.3) group compared to the CON (1.6 ± 0.1) and GM-CLA ($1.4 \pm 0,1$) ($p < 0.05$), but the exercised groups did not enter the open arms. As shown in **Fig. 2C**, the GM (10.8 ± 1.2) also remained in the central area longer compared to the CON ($6.9 \pm 1,0$) and GM-CLA (8.2 ± 0.8) groups ($p < 0.05$) and, the exercised groups GM-EX (3.6 ± 0.5) and GM-CLA-EX ($5.3 \pm 0,7$) spent less time compared to CON-EX (7.8 ± 1.3) and their respective sedentary GM (10.8 ± 1.2) and GM-CLA (8.2 ± 0.8) ($p < 0.05$).

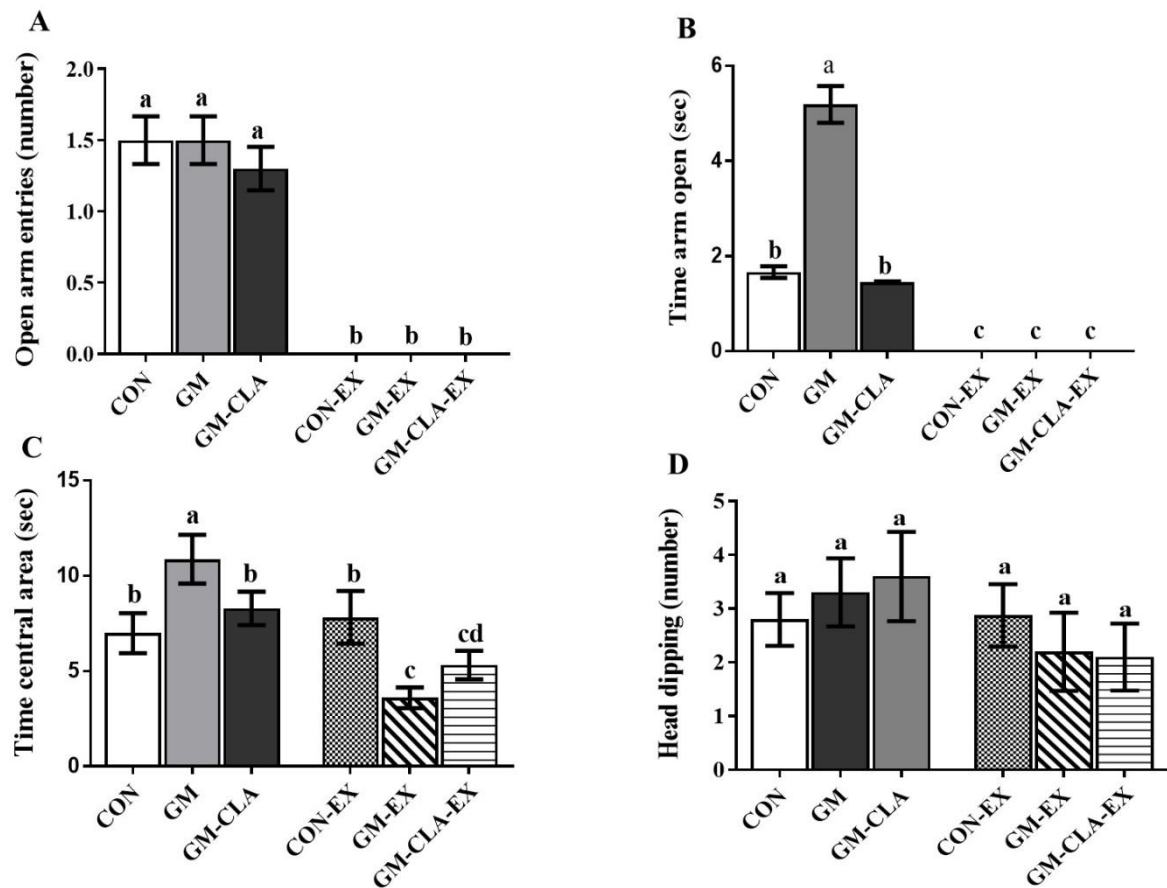


Figure 2: Behavioral test using Elevated Plus Maze. Open arms entrie (A); Time in open arm (B); Time in central area (C) Head dipping (D). Data expressed as Mean $\pm$ SEM, $n = 10$ / group. Different letters between bars means significant differences between groups ($p < 0.05$). ANOVA analysis followed by Tukey test. Control sedentary (CON) and exercised group (CON-EX); Goat milk lipids sedentary (GM) and exercised group (GM-EX); sedentary CLA (GM-CLA) and exercised group (GM-CLA-EX)

Levels of Malonaldehyde and Glutathione

Lipid peroxidation in the brain determined by the MDA (**Fig. 3A**) level was significantly lower in the GM group (154.9 ± 12.6) compared to the CON (233.6 ± 15.2) and GM-CLA (211 ± 15.5) ($p < 0.05$). In the exercised groups, the MDA level was higher in the CON-EX (287.2 ± 33.9) than the CON (233.6 ± 15.2) and GM-EX (228.6 ± 16.3) and GM-CLA-EX (169.3 ± 11.78) groups ($p < 0.05$). Regarding GSH levels (**Fig. 3B**), the GM (410.9 ± 14.5) and GM-CLA (398.8 ± 14.3) groups showed significantly higher levels than the CON (317.0 ± 14.9) ($p < 0.05$).

In the exercised groups, GM-EX (430.5 ± 6.7) and GM-CLA-EX (388.0 ± 11.9) were higher compared to the CON-EX group (288.9 ± 32.2) ($p < 0.05$).

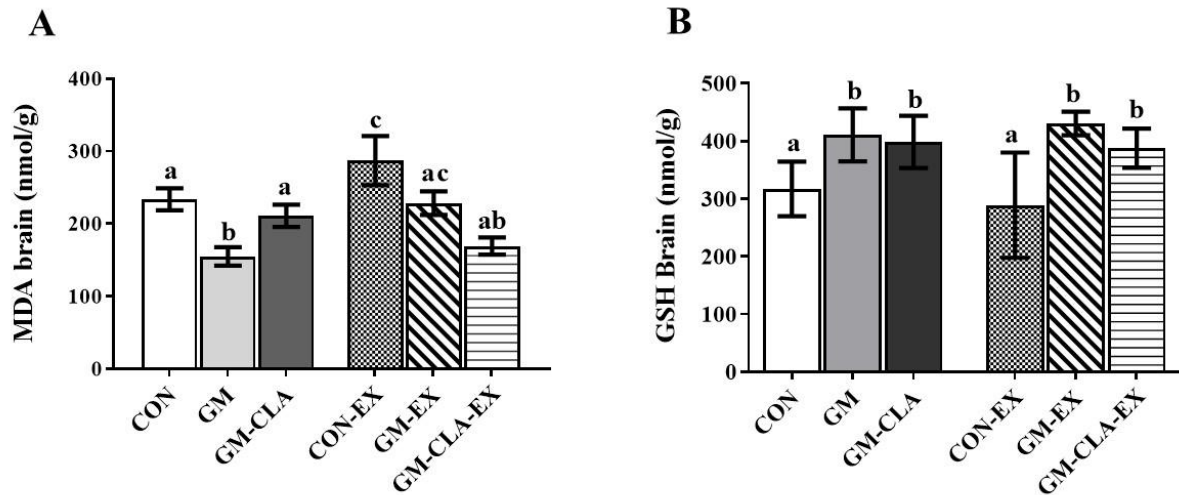


Figure 3: MDA (3A) and GSH (3B) levels in the brains of rats treated with goat milk lipids. Data expressed as Mean $\pm$ SEM, $n = 10$ /group. Different letters between bars signify significant differences between groups ($p < 0.05$). ANOVA analysis followed by Tukey test. Control sedentary (CON) and exercised group (CON-EX); Goat milk lipids sedentary (GM) and exercised group (GM-EX); sedentary CLA (GM-CLA) and exercised group (GM-CLA-EX).

DISCUSSION

Some lipid sources and regular exercise play an important role in brain functions. In this study, we investigated the relationship between a diet with goat milk lipids on brain oxidative stress and anxiety behavior in exercised rats.

The exploratory activity evaluation and the anxiety behavior were investigated using the Open Field and the EPM. Regarding the tests performed in the open field, the ambulation and rearing parameters are related to the exploratory behavior of the animal, and its increase indicates an anxiolytic effect of the treatment²⁹. The results indicate an isolated effect of

exercise on the exploratory behavior in the group that consumed a naturally enriched diet with CLA. Grooming behavior is characterized by increased stress and, consequently, increased anxiety³². In the present study, physical training induced an increase in Grooming in all exercised groups, thus indicating that physical training promoted increased anxiety behavior.

The behavior of anxiety was also evaluated by the LCE test, among which it was verified that the exercised animals of all groups did not enter the open arms during the analyzed period. This reduction in entrance and permanence in the open arms is related to a decrease in the exploratory capacity of the animal, indicating an anxiogenic effect^{18,33}. Therefore, considering that in the exercised groups there was an increase in the grooming behavior and reduction of the number of entry and permanence time in the open arms. These parameters indicate that the exercise protocol used triggered an anxiogenic effect in the exercised groups, and the diet was not able to prevent or reverse this effect. The same did not occur in sedentary animals treated with goat milk fat. GM animals remained longer in the open arms and central area, indicating that with goat's milk fat when not associated with physical exercise, is capable of reduced the behavior of anxiety.

The effect of physical exercise on anxiety behavior will vary according to type and intensity of exercise^{18,34}. Acute treadmill exercise with a velocity of 15m/min for 30 min resulted in decreased anxiety behaviors compared to high-speed running at 25m/min for 30min/day³⁴. Treadmill exercise with a velocity of 15 m/min 30 min/day for 2 weeks improved anxiety behavior¹⁸. In the present study, the exercised animals underwent physical treadmill training for 4 weeks at a speed of 20m/min and 50min/day. Although the physical exercise protocol was considered moderate, in the present study, physical training induced an increase in muscle lipid peroxidation in all groups exercised with high levels of muscular MDA. A possible cause of this increase may be related to the acute effect of the last training session, considering that euthanasia was performed 24 hours after the last training session, did not allow

an adequate recovery of the animals. The metabolic response with exercise may be different in skeletal muscle and in the brain³⁵, in the present study we found that the acute effect of physical training induced oxidative damage in the muscle (data not shown), affecting the increase in anxiety behavior effect.

A combination of exercise and diet can provide benefits for promoting neural health. Research has found that different types of dietary fat (soybean oil, lard and hydrogenated vegetable fat) did not cause anxiogenic effects in sedentary animals. Only the animals fed with soybean oil presented better behavioral performance in the EPM compared to the groups that received lard and hydrogenated vegetable fat. The reduction of anxiety in this group was attributed to the ingestion effect of PUFAs associated with exercise in reducing oxidative damage in the brain, there by improving the normal processes of cell survival, neurogenesis and neuroplasticity, contributing to the reduction in anxiety behavior²¹. The exercised animals treated with both saturated fat (lard) and hydrogenated fat (a source of trans) showed less time in the open arms and head dips compared to the soybean oil group. Thus, exercise was not able to improve the behavior of fat-fed animals with saturated long chain and trans fatty acids.

In the present study, although the goat milk lipids had high amounts of saturated fatty acids, it was found that the animals remained longer in the central area and in the open arms of the EPM when the diet with goat milk lipids was offered and not associated with exercise. However, goat milk lipids with an increase in CLA content did not promote any behavioral changes in these animals. Goat milk lipids is a source of short and medium chain fatty acids (19.55%); this composition may justify the present in reducing anxiety behavior in this group. Since, this consumption of medium chain fatty acids (MCFA) has improved the symptoms of depression induced by forced swimming in rats³⁶. In addition, research with elderly rats treated with medium chain triglycerides (MCT) observed improvement in cognition using the object recognition test³⁷. These authors justify that the ketone bodies produced by the consumption of

these fatty acids are used as energetic substrates in the brain, which reduces glucose oxidation by mitochondria, thus reducing the formation of reactive oxygen species (ROS) in brain tissue and anxiety behavior.

The increase of oxidative stress in the brain has been associated with an increase in the behavior of animal anxiety^{10, 38}. In this sense, oxidative stress in the present study was assessed by MDA levels in the brain. The brain exhibits high rates of oxygen consumption and therefore is source of ROS generation^{39,40}. The increase of these free radicals induces greater peroxidation of the polyunsaturated fatty acids and arachidonic acid generating MDA which is considered a biomarker of oxidative stress⁴¹, and its elevation in the brain has been associated with anxiety behavior⁴². In this study, it was verified that the level of MDA was lower in the GM sedentary group compared to the CON and the behavioral tests in the same group concurrently indicated an anxiolytic effect (with reduced grooming and increased time spent in open arms and central areas). These findings indicate that the diet with goat's milk fat not associated to exercise promoted an anxiolytic effect by reducing lipid peroxidation. However, the group that was not treated with goat milk lipids but submitted to exercise (CON-EX) presented high levels of MDA compared to their respective sedentary group (CON) and showed an increase in anxiety behavior (with increased grooming and reduction in the time spent in the open arms and central areas).

Research has shown that animals treated with commercial CLA isomers showed an effect on the reduction of oxidative stress markers in some tissues^{6, 43, 44, 45}. This can also justify our results, because the goat milk lipids have CLA in its lipid composition. However, it was verified that goat milk lipids with elevated CLA content did not reduce brain MDA level in the sedentary groups compared to the control group. Manipulating the goats' diets to increase the CLA content in the milk fat also induces a change in the fatty acid profile of this fat. While goat milk lipids have higher proportion of short and medium chain saturated fatty acids

(19.55%) and a lower proportion of PUFAs (2.43%) and MUFA (22.15%), raised goat milk lipids of the CLA content has a lower proportion of short and medium chain saturated fatty acids (12%) and a higher proportion of PUFAs (3.58%) and MUFA (31.57%). the reduction of lipid peroxidation and the reduction of anxiety behavior in sedentary animals was controlled by goat milk fat, which presented higher proportions of saturated medium chain fatty acids.

When there was an association with exercise, the diet with goat's milk fat could not induce the same anxiolytic effect, as was observed in the sedentary group. We can relate this finding to the oxidative stress caused by the acute effect of the training. Goat milk lipids were not able to revert these oxidative changes in brain tissue. The higher the levels of MDA in the neural tissue, the greater the anxiety^{46, 47}. It is suggested that during intense physical training the groups fed with goat milk fats used medium and short chain fatty acids as brain energetic substrates through the formation of ketone bodies, thus reducing the process of lipid peroxidation in the neural tissue. However, in the CON-EX group, increased availability of PUFAs in the diet (present in soybean oil) increased the susceptibility to lipid peroxidation in the brains of these animals.

In addition, research has demonstrated the relevance of different exercise modalities in improving the antioxidant defense system in the brain through GSH elevation, free radical control⁴⁸, and the ability to reverse oxidative stress, thus reverting anxiety behavior^{49,50}. These results differ from those obtained in this study, since the GSH levels in the GM-EX and GM-CLA-EX exercised groups were similar to their respective GM and GM-CLA sedentary groups. Therefore, we verified that the training was not effective in activating the GSH elevation system. In addition, the exercise protocol used in this research increased the levels of MDA, and there was consequent worsening in the anxiety parameters - grooming, entrance and time in the open arms and time in the central area by the GM-EX and GM-CLA-EX.

The response of antioxidant enzyme activity in the brain in exercised animals depends on the type of physical activity, intensity and duration of physical training, age, gender and stress on the animals ⁵¹. Considering that exercise intensity modulates different responses in anxiety behavior, Salim et al. (2010) and Mazur et al. (2017) observed that a treadmill running protocol with a velocity of 15m/min and duration of 60 min and 40 min respectively, induced a positive effect on behavior parameters and antioxidant defenses. Thus, our speed protocol (15 to 21m / min) and duration up to 50min / day promoted increased lipid peroxidation in the muscle and brain, probably due to a greater production of free radicals. However, the effect of the consumption of goat milk fat diets was important on the levels of GSH in these tissues. The recovery time has probably been insufficient for the animals and this has had an impact on the response of the body's antioxidant system.

CONCLUSION

Physical training associated with the consumption of selected nutrients can maximize the effectiveness of oxidative stress control and antioxidant defense mechanisms, thereby preventing the development of anxiety behaviors. In the present study, we observed that goat milk lipids showed a potential effect on reducing MDA levels and increasing GSH, which were associated with decreased anxiety behavior when not associated with exercise. On the other hand, these benefits were reversed when the animals were submitted to intense physical training.

Statement of interest

None.

REFERENCIAS

- 1- JKB. Soares, APR. Melo, MC. Medeiros, RCRE. Queiroga, MAD. Bomfim, ECA. Santiago, RA. Guedes, Anxiety behavior is reduced, and physical growth is improved

- in the progeny of rat dams that consumed lipids from goat milk: An elevated plus maze analysis. *Neurosc. Lett.*, 2013, **552**, 25.
- 2- MH. Vickers, JGM. Gustavsson, CU. Krägeloh, BH. Breier, M. Davison, B. Fong, C. Norris, M. P. Jarrow, S.C. Hodgkinson, Supplementation with a mixture of complex lipids derived from milk to growing rats results in improvements in parameters related to growth and cognition, *Nutrit. Res.* 2009, **9**, 426.
 - 3- J. Tripathi, Effect of Nutrition on Production, Composition, Fatty acids and Nutraceutical Properties of Milk, *J Adv Dairy Res*, 2015, **3**, 1000.
 - 4- G. Getaneh, A. Mebrat, A. Wubie, H. Kendie, Review on Goat Milk Composition and Its Nutritive Value. *J Nutr Health Sci.*, 2016, **4**, 401.
 - 5- DE. Bauman, AL. LOCK, Conjugated linolic acid: Biosynthesis and nutritional significance. *Adv Day Chem.* 2004, **3**, 93.
 - 6- L. Basiricò, P. Morera, D. Dipasquale, A. Tröschler, U. Bernabucci, Comparison between conjugated linoleic acid and essential fatty acids in preventing oxidative stress in bovine mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.*, 2017, **3**, 2299.
 - 7- M. FA, A. Diana, G. Carta, L. Cordeddu, MP. Melis, E. Murru, V. Sogos, S. Banni, Incorporation and metabolism of c9, t11 and t10, c12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers in rat brain. *Biochim Biophys Acta.*, 2005, **1**, 61–66.
 - 8- JJ. Liu, MS. Pnina, MD. Green, JJ. Mann, MD. Stanley, MD. Rapoport. ME. Sublette, M.D. Pathways of Polyunsaturated Fatty Acid Utilization: Implications for Brain Function in Neuropsychiatric Health and Disease. *Brain Res.* 2015, **0**, 220.
 - 9- N. Bakunina, CM. Pariente, PA. Zunszain, Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology*, 2015, **144**, 365.
 - 10- LR. STEENKAMP, CM. HOUGH, VI. REUS, FA. JAIN, ES. EPEL, SJ. JAMES, AE. MORFORD, SH. MELLON, OM. WOLKOWITZ, D. LINDQVIST, Severity of anxiety– but not depression– is associated with oxidative stress in Major Depressive Disorder. *J Affect Disord.* 2017, **219**, 193.
 - 11- S. Gandhi, AY. Abramov, Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid. Med Cell Longev.* 2012, **2**, 11.
 - 12- A. Ayala, MF. Muñoz, S. Argüelles, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014, **4**, 360.
 - 13- QF. Trevizol, KR. Roversi, VT. Dias, K. Roversi, RCS. Barcelos, FT. Kuhn, CS. Pase, R. Golombieski, JC. Veit, J. Piccolo, D. Pochmann, LO. Porciú Ncula, QFT.

- Emanuelli, JBT. Rocha, Cross-generational trans fat intake facilitates mania-like behavior: oxidative and molecular markers in brain cortex. *Neuroscience*, 2015, **286**, 353.
- 14- CP. Müller, M. Reichel, C. Mühle, C. Rhein, E. Gulbins, J. Kornhuber, Brain membrane lipids in major depression and anxiety disorders, *BB A- Molec Cel. Biol Lip.* 2015, **1851**, 1052.
- 15- TD. Zbozinek, RD. Rose, KB. Wolitzky-Taylor, C. Sherbourne, G. Sullivan, MB. Stein, PP. Roy-Byrne, MG. Craske, Diagnostic overlap of generalized anxiety disorder and major depressive disorder in a primary care sample. *Depress. Anxiety*, 2012, **29**, 1065.
- 16- MM. Pusceddu, P. Kellyc, N; Ariffina, DJF. Cryanb, G. CLarkea, TG. Dinan, n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: Effects of early life stress. *Psychoneuroendocrinol*, 2015, **58**, 79.
- 17- C. Hryhorczuk, L. Décarie-Spain, S. Sharma, D. Daneault, C. Rosiers, T. Alquier, S. Fulton, Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamuspituitary-adrenal axis function but not anxiety-like behaviour. *Psychoneuroendocrinol*, 2017, **83**, 142.
- 18- G. PATKI, N. SOLANKI, F. ATROOZ, A. ANSARI, A. FARIDA, B. JANNISE, J. MATURI, S. SALIM, Novel mechanistic insights into treadmill exercise-based rescue of social defeat-induced anxiety-like behavior and memory impairment in rats *Physiology & Behavior*, 2014, **130**, 135.
- 19- SY. Wu, TF. WAng, L. Yu, CJ. Jen, JI. Chuang, FS. Wu, CW. Wu, YM. Kuo, Running exercise protects the substantia nigra dopaminergic neurons against inflammation-induced degeneration via the activation of BDNF signaling pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2011, **25**, 135.
- 20- AM. Teixeira, F. Trevizol, G. Colpo, SC. Garcia, Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: behavioral and antioxidant evaluations. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, **88**, 465.
- 21- AM. Teixeira, CS. Pase, N. Boufleur, K. Roversi, Exercise affects memory acquisition, anxiety-like symptoms and activity of membrane-bound enzyme in brain of rats fed with different dietary fats: impairments of *trans* fat. *Neuroscience*, 2011, **195**, 80.
- 22- MAD. Bomfim, RCRE. QUeiroga, MB. Aguila, MC. Medeiros, M. Flsberg, MT. Rodrigues, MO. Karina, DPD, Lanna, Abordagem muslticiplinar de P, D & I para o

- desenvolvimento de produto lácteo caprino com alto teor de CLA e alegação de propriedade funcional. *Rev. Bras. Zooten*, 2011, **40**, 98.
- 23- PS. Sukhija, DL. Palmquist, Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 1988, **36**, 1202.
- 24- DL. Palmquist, TC. Jenkins, Challenges with fats and fatty acid methods. *J. Anim. Sci*, 2003, **81**, 250.
- 25- PG. Reeves, FH. Nielsen, GC. Fahey, AIN- 93 - Purified diers for laboratory rodents: final report of the american institute of nutrition and hoe writing comitee on the reformulation of the American Institute of Nutrition (AIN) -76^a rodent diet. *J. Nutrition*, 2003, **123**, 1939.
- 26- RK. Dishman, RB. Armstrong, MD. Delp, Open-Field Behavior is not Related to Treadmill Performance in Exercising Rats. **Phystology Behavtor**, v.43, p.541-546, 1988.
- 27- S. Gomes da Silva, F. Dona, MJS. FERNandes, FA. Scorza, Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain & Development*. 2010, **32**, 137.
- 28- M. Batista-de-Oliveira, AAC. Lopes, RCA. Guedes, AAC. Lopes, R. Mendes-da-Silva, Aging-dependent brain electrophysiological effects in rats after distinct lactation conditions, and treadmill exercise: A spreading depression analysis. *Experimental Gerontology*, 2012, **47**, 452.
- 29- S. Pellow, P. Chopin, SE. File, M. Briley, Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neur. Met*, 1985, **14**, 149.
- 30- M. Esterbauer, KH. Cheeseman, Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonyldialdihyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, 1990, **186**, 407.
- 31- ME. Anderson, Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in Enzymology*, 1985, **113**, 548.
- 32- Z. Radák, G. Silye, C. Bartha, J. Jakus, E. Stefanovits-Bányai, M. Atalay, O. Marton, E. Koltai, The effects of cocoa supplementation, caloric restriction, and regular exercise, on oxidative stress markers of brain and memory in the rat model, *F. Chem. Toxicol*, 2013, **61**, 36.
- 33- W. Mizunoya, K. Ohnuki, K. Baba, H. Miyahara, N. Shimizu, K. Tabata, T. Kino, Y. Sato, R. Tatsumi, Y. Ikeuchi. Effect of dietary fat type on anxiety-like and depression-like behavior in mice. *Springer Plus*, 2013, **2**, 165.

- 34- T. Otsuka, A. Nishii, S. Amemiya, N. Kubota, T. Nishijima, T. Kita, Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety and depressive-like behaviors in rats. *Behav Brain Res.* 2016, **298**, 44.
- 35- Z. Radak, K. Suzuki, M. Higuchi, L. Balogh, I. Boldogh, E. Koltai, Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection, *Free Radic Biol Medic*, 2016, **98**, 187.
- 36- H. Shinohara, H. Fukumitsu, A. Seto, S. Furukawa. Medium-chain fatty acid-containing dietary oil alleviates the depression-like behaviour in mice exposed to stress due to chronic forced swimming. *J. Func. Food*, 2013, **5**, 601.
- 37- D. Wang, E.S. Mitchell, Cognition and Synaptic-Plasticity Related Changes in Aged Rats Supplemented with 8- and 10-Carbon Medium Chain Triglycerides, *P. One*, 2016, **11**, 1.
- 38- LSV. Velzen, M. Wijdeveld, CN. Black, MJ. Tol, NJA. Wee, DJ. Veltman, BWJH. Penninx, L. Schmaal, Oxidative stress and brain morphology in individuals with depression, anxiety and healthy controls. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2017, **76**, 140.
- 39- E. Galea, N. LAunay, M. Portero-ottin, M. Ruiz, R. Pamplona, P. Ubourg, I. Ferrer, A. Pujol, Oxidative stress underlying axonal degeneration in adrenoleukodystrophy: a paradigm for multifactorial neurodegenerative diseases? *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, **1822**, 1475.
- 40- Friedman J. Oxidative stress and free radical damage in neurology. In: Gadoth N, Göbel HH, editors. *Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. Totowa, NJ: Hum. Press; **2011**, 19.
- 41- Esterbauer, H., Schaur, R.J., Zollner, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med.*, 1991, **11**, 81.
- 42- Yan, B; Guo, J; Liu, X; Li, J; Yang, X; Ma, P; Wu, Y. Oxidative stress mediates dibutyl phthalate-induced anxiety-like behavior in Kunming mice. *Envir. Toxicol, Pharm.*, 2016, **45**, 45.
- 43- Bergamo, P; Maurano, F; Rossi, M. Phase 2 enzyme induction by conjugated linoleic acid improves lupus-associated oxidative stress. *Free Radic Biol. Medic*, 2007, **43**, 71.
- 44- MF. Andreoli, PG. Illesca, MA. González, CA. Bernal, conjugated linoleic acid reduces hepatic steatosis and restores liver triacylglycerol secretion and the fatty acid profile during protein repletion in rats. *Lipids*, 2010, **45**, 1035.

- 45- K. Chinnadurai, HK. Kanwal, AK. Tyagi, C. Stanton, P. Ros, High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. *Lipids Healt. Dis*, 2013, **12**, 121.
- 46- R. Krolow, DM. Arcego, C. NOschang, SN. Weis, C. Dalmaz, Oxidative Imbalance and Anxiety Disorders. *Current Neuropsychopharmacology*, 2014, **12**, 193.
- 47- Q. Li, M. Zhang, YJ. Chen, YJ. Wang, F. Huang, J. Liu, J. Oxidative damage and HSP70 expression in masseter muscle induced by psychological stress in rats. *Physiol. Behav.*, 2011, **104**, 365.
- 48- D. Özbeyli, G. Sarı, N. Özkan, B. Karademir, M. Yüksel, Ö. Tugç, C. Kayae, Ö. Kasımay, Protective effects of different exercise modalities in an Alzheimer's disease-like model. *B. Brain Res.*, 2017, **328**, 159.
- 49- S. Salim, NJ. Sarra, M. Taneja, K. Saha, Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *B. Brain Res.*, 2010, **208**, 545.
- 50- FG. Mazur, LFG. Oliveira, MP. Cunha, ALS. Rodrigues, RAN. Pértile, LF. Vendruscolo, GS. Izídio, Effects of physical exercise and social isolation on anxiety-related behaviors in two inbred rat strains. *Behav Proces*, 2017, **142**, 70.
- 51- Z. Radak, AW. Taylor, H. Ohno, S. Goto, Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc. Immunol Rev.* 2001, **7**, 90.

ARTIGO II

GOAT'S MILK FAT REDUCES BODY FAT, PLASMA LIPIDS AND CONTROLS BLOOD GLUCOSE IN RATS WHEN ASSOCIATED WITH EXERCISE

(Submetido ao periódico Journal Functional Food. Fator de impacto: 3,14. Qualis A1)

**Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when
associated with exercise**

Mayara Queiroga Queiroga^{a*} - mayara.queirogab@gmail.com

^a Federal University of Campina Grande, Education and Health Center, Cuité, PB,

CEP:58175-000 - Brasil

Marco Aurélio Delmondes Bomfim^c - marco.bomfim@embrapa.br

^c Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA)/Ovinos e Caprinos - Groaíras, s/n

- Zona Rural, Sobral - CE, 62010-970

Daline Fernanda de Sousa Araújo^d - daline_araujo@yahoo.com.br

^d Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Departamento de Biofísica e Farmacologia, Lagoa Nova, CEP: 59072970 - Natal, RN – Brazil.

Gerlane Coelho Bernardo Guerra^d - gerlaneguerra@hotmail.com

^d Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Departamento de Biofísica e Farmacologia, Lagoa Nova, CEP: 59072970 - Natal, RN – Brazil -

Iohrana Braz do Nascimento^a - iohranabraz@gmail.com

^a Federal University of Campina Grande, Education and Health Center, Cuité, PB,

CEP:58175-000 Brasil

Sebastião Ânderson Dantas da Silva^a - sebastiaoandersondantas@gmail.com -

^a Federal University of Campina Grande, Education and Health Center, Cuité, PB,

CEP:58175-000 Brasil

Susana Alves^e - susanaalves@fmv.ulisboa.pt

Center for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA) – FMC – ULISBOA

Rui Bessa^e – rjbbessa@fmv.ulisboa.pt

Center for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA) – FMC – ULISBOA

Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga^b - rcqueiroga@uol.com.br

^b Federal University of Parayba, Laboratory of Bromatology, Castelo Branco - João Pessoa,

Paraíba, Cep: 58051-900, Brazil

Juliana Kessia Barbosa Soares^{a*} - julianakessia2@gmail.com

^a Federal University of Campina Grande, Education and Health Center, Cuité, PB,

CEP:58175-000 Brasil

* **Correspondence to:** Mayara Queiroga Barbosa - Federal University of Campina Grande, Education and Health Center, Sítio Olho D'Água, Cuité, PB, CEP:58175-000 Brasil, Tel: +55 (083) 3372-1900, e-mail: mayara.queirogab@gmail.com

ABBREVIATION

CLA, conjugated linoleic acid; ROS, reactive oxygen species; MDA, malonyldialdeido; GSH, Glutathione; SFA, saturated fatty acids; PUFAs, polyunsaturates fatty acid; EPA/DHA, SO, soybean oil; DTNB, dithiobisnitrobenzoic acid; MCFA medium chain fatty acids; MCT, medium chain triglycerides; Short-chain saturated fatty acids (SCFAs); **LCFAs**, long- chain saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acid.

ABSTRACT

We investigated the effects of goat milk fat with different levels of CLA associated with exercise in rats. The groups were: sedentary control (CON) and exercised (CON EX); sedentary goat's milk fat (GM) and exercised (GM-EX); Goat's milk fat enriched with sedentary CLA (GM-CLA) and (GM-CLA-EX) exerted. Body weight was lower in the groups fed with goat's milk fat, because GM-EX presented lower weight gain. Mesenteric, retroperitoneal and carcass fat decreased in GM-EX and GM-CLA-EX. Body protein was higher in GM-EX. GM and GM-CLA increased glycemia and decreased GM-EX and GM-CLA-EX. HDL-c was lower in GM; However, with GM-EX training it was smaller than GM. MDA muscle levels were higher in the sedentary groups that consumed goat's milk fat diets and those exercised CON-EX and GM-EX. GM and GM-EX showed higher levels of GSH in relation to all groups. Diets with goat milk fat associated with physical training promoted a reduction in body weight gain, reducing body fat, controlling blood glucose and reducing risk factors for atherosclerosis. However, the CLA content in the diet did not influence these results.

Keywords: Lipids; aerobic exercise; body fat; lipid oxidation; goat's milk fat

1. INTRODUCTION

Risk factors for chronic degenerative diseases such as obesity are associated with unbalanced eating and sedentary lifestyle (WHO, 2013). Dietary lipids play a key role in modulating the plasma lipid profile, preventing or promoting the development of dyslipidemias

and atherosclerosis (Zhang et al., 2016; WHO, 2013). In this way, dietary fatty acids must be consumed in adequate quantity and quality to maintain health benefits.

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are regulator important of many biochemical reactions that are essential for the proper functioning of metabolism in controlling the percentage of total body fat and consequently obesity (O'Shea et al., 2004, Casey et al., 2013). Already, saturated fatty acids (SFA), for example, may increase the risk of progression of atherosclerosis (Willet, 2012). However, it is not all SFAs that have these effects; this action depends on the length and saturation of the carbon chain (Marten; Pfeuffer; Schrezenmeir, 2006; Zhang et al., 2015). Saturated medium chain fatty acids (MCFAs) have been shown to increase satiety (Coleman, Quinn & Clegg, 2016), reduced weight and body fat (Mumme, Stonehouse, 2005; Ferreira et al., 2014) and prevented atherosclerosis (Zhang et al., 2016; Kondreddy et al., 2016).

Goat's milk is considered a functional food with promising health potential and is a source of medium- and short-chain saturated fatty acids (MCFAs and SCFAs), as well as monounsaturated and polyunsaturated fatty acids such as conjugated linoleic acid (CLA) (Getaneh et al., 2016; De Assis et al., 2016). CLA refers to a group of linoleic acid that is produced naturally by biohydrogenation and fatty acids isomerized by rumen bacteria present in different animals such as cows and goats (Bauman et al., 2002, Stefanson et al., 2014). The content of CLA and MCFAs in goat's milk fat can be increased by adding vegetable oils into the diets of these animals (Bauman et al., 2002; Stefanson et al., 2004; Gonzalez et al., 2003; Ma et al., 2015).

In a research, CLA-treated rats showed reduced body weight, visceral adipose tissue, modulation of plasma lipid profile (Malinska et al., 2015) and reduced markers of oxidative stress in some tissues (Andreoli et al., 2008; Basiricò et al., 2017; da Silva et al., 2012). Despite these effects, the International Society of Sports Nutrition categorizes commercial CLA as a

possibly effective supplement for weight loss (Krenier et al., 2010) because studies with humans present controversial results and questionable methodologies for different dosages and proportions of their isomers. Therefore, the consumption of CLA food sources constitutes a more viable alternative for the population; however, it requires more studies.

Research on the effects of naturally-occurring CLA-enriched food sources on animal models has demonstrated reduced total cholesterol and fractions (LDL, VLDL) (Lock et al., 2005), elevated HDL and reduced triglycerides in rats (Rodrigues et al., 2014). In humans, the addition of CLA and MCFAs in the diet increased satiety and reduced energy intake, indicating potential help to maintain energy balance (Coleman, Quinn & Clegg, 2016). However, research that relates the effects of dietary source consumption with CLA and MCFA combined with physical training is still scarce in animal and human models.

The association of physical exercise with an adequate diet has been used with the objective of promoting weight loss and/or improving body composition. In addition, regular physical exercise is considered a preventive therapy for diseases such as obesity, arteriosclerosis and diabetes mellitus (Fukao et al., 2010; Duclos, Virally, Dejager, 2011). When physical training was associated with supplementation of CLA isomers, an increase in endurance exercise capacity was observed in endurance exercise, improving muscular atrophy and reducing body fat (Kim et al., 2010; Kim & Kim, 2013). However, the effects of physical training associated with consumption of goat's milk fat which naturally has CLA and MCFAs, have not yet been investigated.

Considering the quality of the fatty acid profile present in goat milk fat and in the presence of CLA and MCFAs and that there is no research using goat milk fat associated with physical training, our hypothesis is that milk fat consumption of goat associated with physical training will potentiate lower weight gain, improve lipid profile by reducing body fat and modulating oxidative stress in the muscle. The objective of this study was to evaluate the effects

of diets with goat milk fat with dietary CLA levels on body composition, biochemical parameters and muscle oxidative stress in rats submitted to physical training.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Goat's milk fat

The goat milk fats used in the present study were provided by the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA). Goat's milk fat with normal CLA content and goat's milk fat with increased CLA content were obtained. Goats received a diet containing 3.5% soybean oil for 20 days to obtain goat's milk fat with increased CLA content. Then, goat's milk was collected and skimmed to collect the goat milk fat, which was frozen and stored until preparation of the experimental diet, and was then offered to rats (BOMFIM, 2011).

2.2. Analysis of Fatty Acid Composition

Samples of soybean oil (SO), goat's milk fat (GM) and goat's milk fat with increased CLA content (GM-CLA) were analyzed for their lipid profile in the Laboratory of Animal Production Systems of Center for Interdisciplinary Research in Animal Health at the University of Lisbon (Table 1) The samples were submitted to a transesterification procedure (Sukhija & Palmquist 1988; Palmquist & Jenkins, 2003). The fatty acids were analyzed as methyl esters by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) using a Shimadzu QP2010-plus chromatograph (Shimadzu, Kyoto, Japan) equipped with a column (SP-2560, 100 m × 0.25 mm × 0.20 µm, Supelco, Bellefonte, PA, USA). The injector and detector were maintained at 250°C and 280°C, respectively, during the analysis. Helium was used as entrainment gas at a constant flow rate of 1 ml/min and 1 µl of sample was injected. The oven temperature was programmed to begin at 50 °C, increasing by 50 °C every minute until reaching 150 °C and

remaining for 20 minutes, then increasing by 1 °C every minute until reaching 190 °C, then again increasing by 2°C every minute until reaching 220 °C and remaining at that temperature for 30 minutes. The identified fatty acids were expressed in percentages and are shown in Table 1.

Table 1. Fatty acid profile of the different fat sources (%)

Composição	Nº de carbonos	SO	GM	GM-CLA
Butiric acid	C4:0	-	2.29	2.61
Caproic acid	C6:0	-	2.75	2.27
Caprylic acid	C8:0	-	3.27	1.84
Capric acid	C10:0	-	11.14	5.28
Lauric acid	C12:0	-	4.37	1.95
Σ MCFAs	-	-	23,82	13,98
Myristic acid	C14:0	0.42	10.36	6.15
Pentadecylic acid	C15:0	-	1.37	1.01
Palmitic acid	C16:0	17.1	25.52	21.01
Margaric acid	C17:0	0.34	0.80	0.64
Stearic acid	C18:0	5.93	12.79	21.17
Σ LCFAs	-	23,79	50,84	49,98
Palmitoleic acid	C16:1	-	0.68	0.59
Heptadecenoic acid	C17:1	-	0.16	0.10
Oleic acid	C18:1	28.53	21.18	30.82
Eicosenoic acid	C20:1	-	0.04	0.05
Linoleic acid	C18:2	42.56	1.59	1.52
α-linolenic acid	C18:3	4.89	0.23	0.16
Dihomo-γ-linolenic acid	C20:3n-6	-	0.02	0.01
Arachidonic acid	C20:4n-6	-	0.16	0.13
Eicosapentaenoic acid	C20:5n-3	-	0.02	0.01
Clupanodonic acid	C22:5n-3	-	0.05	0.04
Docosahexanoic acid	C22:6	-	0.02	0.03
CLA- cis-9, trans-11		-	0.34	1.69
Σ MUFA		28.53	22.15	31.57

Σ PUFA	47.45	2.43	3.58
Σ SFA	23.79	75.52	64.86
MUFA:SFA	1.2:1	1:3.4	1:2
PUFA:SFA	2:1	1:3.1	1:1.8

SO: soy oil; GM: goat milk fat; GM-CLA: goat's milk fat with increase of CLA. MCFAs: medium chain saturated fatty acids; LCFAs: Long saturated chain fatty acids.

2.3. Animals

Male Wistar rats (70 days old/230-280 g) were obtained from the Department of Nutrition of the Federal University of Campina Grande, Brazil, housed in individual cages at standard temperature (22 ± 1 °C), humidity ($65 \pm 5\%$) and under a light/dark cycle of 12 h/12 h (artificial lights, from 6:00 to 18:00). The rats were then divided randomly into six groups (10 animals each) and fed during for 4 weeks with experimental diets formulated with different lipid sources according to the following allocated groups: sedentary (CON) and exercised (CON-EX) control group with a standard diet with soybean oil; sedentary (GM) and exercised goat's milk fat group (GM-EX); sedentary (GM-CLA) and exercised goat's milk fat with higher content of CLA groups (GM-CLA-EX). Diets were formulated based on the recommendations of the American Institute of Nutrition - AIN-93M (Reevrs, 1993) with components supplied by Rhoister (São Paulo, Brazil), only differing in the type of fat added. The diet composition consisted of 14% casein, 60% corn starch, 10% sucrose, 5% fat, 5% cellulose, 3.5% mineral blend, 0.25% choline, 1.8% D, L-cystine and 1% vitamin mix (AIN-93). The rats received food and water *ad libitum* throughout the experiment. All procedures were previously approved by the Animal Research Ethics Committee of the protocol of the Federal University of Campina Grande no. CEP 142/2014 and National Institute of Health Bethesda (Bethesda, USA), regarding animal care.

2.4. Assessment of dietary intake, body weight and weekly body weight gain

Body weight and food consumption were recorded weekly using a digital electronic Balmax ® (model ELP – 25, scale with a maximum capacity of 500 g). Food consumption was calculated weekly, and represents the difference between the offered and the rejected feed: intake (g) = offered quota (g) - clean rejection (g). The food that was not consumed and remained in the external area of the cage was considered a clean rejection (Vadivel & Pugalenth, 2010). Weight gain was obtained weekly by the calculation (Final Weight - Initial Weight).

2.5. Physical training

The animals were adapted to treadmill running at speeds and progressive times to classify training performance. For training and selection of runners and sedentary animals, the performance of the animals on the treadmill was classified according to the scale of 1 to 5 described by Dishman et al. (1988). The scale is described according to the following parameters: 1 - refused to run; 2 - below average runner (sporadic, stop and go, wrong direction); 3 - average runner; 4 - above average runner (consistently runs, occasionally falls back on treadmill); 5 - Good runner (consistently stays ahead on the treadmill). Animals with a mean score of 3 or above were included in the group. During the next four weeks the animals were submitted to a moderate physical training protocol on a motorized treadmill (Insight EP-131, 0° inclination) with progressive speed and time. In the first week of training the implemented protocol was 20 min – 15 m/min; and in the fourth and last week it was 50min - 20m/min (Gomes da Silva et al., 2010; Batista de Oliveira et al., 2012). The sedentary group remained on the treadmill for similar time and weekly sessions as the exercised groups.

2.6. Murinometry parameters

The animals were anesthetized with Ketamine Hydrochloride + Xilazine Hydrochloride (1 ml/kg of body weight) for chest circumference (CT), abdominal circumference (CA), and body weight and body length for determining body mass index ($BMI = \text{body weight (g)} / \text{length}^2 \text{ (cm}^2\text{)}$) (Novelli et al., 2007).

2.7 Euthanasia and tissue preparation

After behavioral tests the animals were submitted to the last session (32nd day of experiment) of physical training of 50 min with a speed of 20m / min. The animals remained in rest for 24 hours. Subsequently, the animals were anesthetized with Ketamine Hydrochloride + Xilazine Hydrochloride (1 mL / kg body weight). Euthanasia was performed through the section of the carotid arteries and jugular veins under general anesthesia and, therefore, unconscious. Then, decapitation was obtained to obtain the tissues were isolated, weighed and stored at -80 ° C for further analysis.

2.8 Body fat

After euthanasia, the retroperitoneal, mesenteric and epididimal adipose tissues were removed and weighed. The body fat index was calculated by the sum of the weight of retroperitoneal, mesenteric and epididimal adipose tissue using the formula: retroperitoneal + mesenteric + epididimal fat $\times 100 / \text{final body weight}$ (adapted from Stunkard & Wadden, 1993).

2.9. Body composition

For body composition analysis, the carcass of the animals was weighed and then stored in a freezer (20 °C). Afterwards, they were crushed in an industrial mill (CAF-10 Stainless Steel Meat Grinder 1/2CV). Body protein was determined by the MicroKjeldahl method (AOAC, 2012) and the total fat percentage was quantified by the method of Folch; Loss; Stanley (1957).

2.10. Biochemical Analysis

The collected blood was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and supernatant was used for glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, Triglycerides dosing using the Labtest[®] kits of Cholesterol Liquiform[®], HDL-Liquiform[®]. The reading was performed in a spectrophotometer (Spectrophotômetro SP 1102) operating in the specific range indicated by the kit manufacturer. The LDL cholesterol concentration was estimated using the Friedewald formula (Friedewald, 1972). CT/HDL-C ratios (Castelli, 1988) and TG/HDL-C were also calculated (Gaziano et al., 1997).

2.11. Oxidative Stress Markers

2.11.1. Determining the Malondialdehyde levels (MDA)

The gastrocnemius muscle samples were suspended in 1:5 (w/v) TrisHCl buffer and scribed for 15 seconds on an ice-cold plate. The resulting suspension was homogenized for 2 minutes with a Potter automatic homogenizer and centrifuged at 2500 xg and 4 °C for 10 min. The supernatants were used to determine the MDA content (Esterbauer & Cheeseman, 1990). The results were expressed as MDA nmol/g tissue.

2.11.2. Glutathione levels in the gastrocnemius muscle

Gastrocnemius muscle fragments were removed for Glutathione analyzes (Anderson, 1985). Gastrocnemius muscle samples that had been frozen with 1 mL of trichloroacetic acid were thawed and cut with scissors for 15 seconds on an ice-cold plate. The resulting suspension was subsequently diluted to a final ratio of 1:20 (w/v) and homogenized for 2 min with a Potter automatic homogenizer and centrifuged at 2000 $\times g$ and 4 °C for 5 min. The supernatants were then centrifuged at 9000 $\times g$ and 4 °C for 5 min. Supernatants were used to determine total glutathione. The total GSH present in the sample was determined by its incubation with dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB). The newly formed GSH oxidizes resulting in a continuous cycle in which the DTNB reduction rate is proportional to the amount of total glutathione with the consequent increase in absorbance at 412 nm. Total glutathione (GSH) was expressed as nmol/g wet tissue.

2.11. Statistical Analyzes

The data were expressed in mean and mean standard error (SEM). To verify the normality, curve the Shapiro-Wilk test, specific for small samples, and submitted to One-way ANOVA, and a Tukey post-test was performed in the case of detecting a difference between the groups, considering a significance level of 5%. All data were analyzed by GraphPad Prism[®] version 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

3. RESULTS

3.1. Food intake and body weight

No significant differences were observed among the evaluated groups ($p > 0.05$) regarding food consumption (Figure 1).

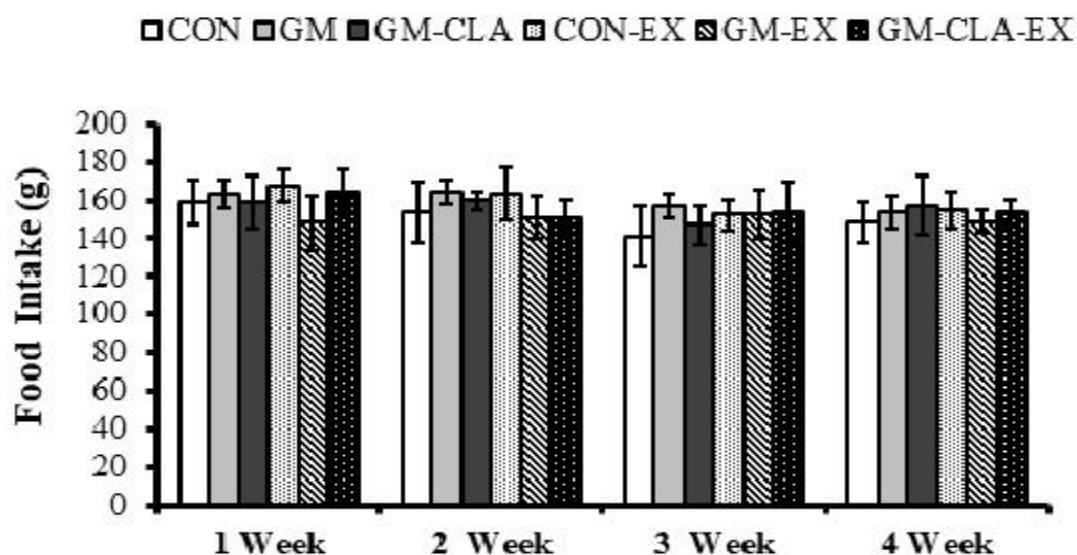


Figure 1 - Weekly food intake of the experimental groups. Data are mean $\pm$ SEM values ($n = 10$ per treatment group); One-Way ANOVA ($p < 0.05$); CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: sedentary goat's milk fat with increased source of CLA; CON EX: exercised control; GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA: exercised goat's milk fat with increased source of CLA.

During the 2nd, 3rd and 4th weeks of the experiment, the exercised groups GM-EX (280 ± 9.6 , 295.4 ± 4.7 , 305.1 ± 5.6) and GM-CLA-EX (280.3 ± 11.1 , 298.3 ± 13.7 , 311 ± 14.0) presented lower body weight (Figure 2A) compared to the CON-EX group (308.3 ± 11.6 , 323.2 ± 11.4 , 347.6 ± 16.3) ($p < 0.05$). However, when comparing the weights of the exercised groups and their respective sedentary groups, lower body weight was only observed in the GM-EX (280 ± 9.6 , 295.4 ± 4.7 , 305.1 ± 5.6) compared to GM (312.3 ± 7.8 , 325.0 ± 7.0 , 343.8 ± 9.3). When we evaluated the isolated effect of exercise (Figure 2B), we found that the EX group (304.1 ± 13.9 ; 318.8 ± 18.6) were significantly lower in the 3rd and 4th weeks of the experiment compared to the mean body weight SED group (319.5 ± 8.1 , 338.8 ± 9.2) ($p < 0.05$).

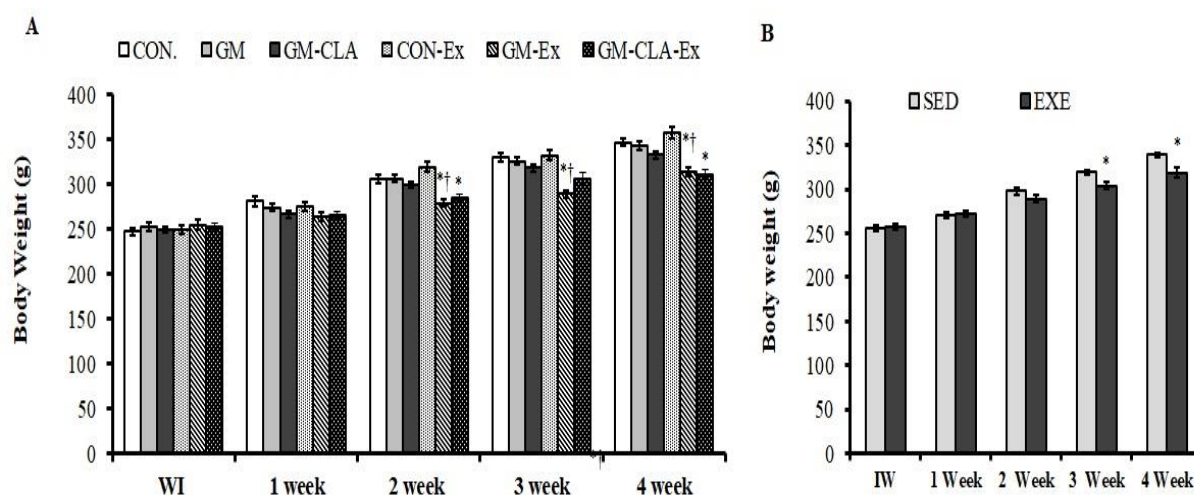


Figure 2: Body weight (2A) and body weight (2B) of the experimental groups. 2A: data are mean $\pm$ SEM values ($n = 10$ per treatment group). (*) indicates difference between ($p < 0.05$) versus CON-EX; (†) indicates difference between exercised vs sedentary groups; (One-Way ANOVA) ($p < 0.05$); 2B: Data are mean $\pm$ SEM values ($n = 30$ per group). (*) indicates difference between ($p < 0.05$) versus EX; (test – t) ($p < 0.05$); CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: sedentary goat's milk fat with increased source of CLA; CON-EX: exercised control; GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA: exercised goat's milk fat with increased source of CLA; IW: Initial Weight.

3.2. Body Weight Gain

There were no differences in weight gain during the first, second and third week of experimentation among the sedentary groups ($p > 0.05$). However, in the last week of the experiment, the GM group presented greater weight gain in relation to the NOC and GM-CLA ($p > 0.05$) (Figure 3). The body weight gain in the GM-EX group was lower in the 2nd, 3rd and 4th weeks of the experiment compared to the respective sedentary GM group ($p < 0.05$). The GM-CLA-EX group presented lower weight gain in the 2nd week compared to CON-EX and GM-

CLA, and in the 3rd week of the experiment compared to GM-CLA ($p < 0.05$), while GM-EX showed lower weight gain compared to CON ($p < 0.05$) only in the 3rd week.

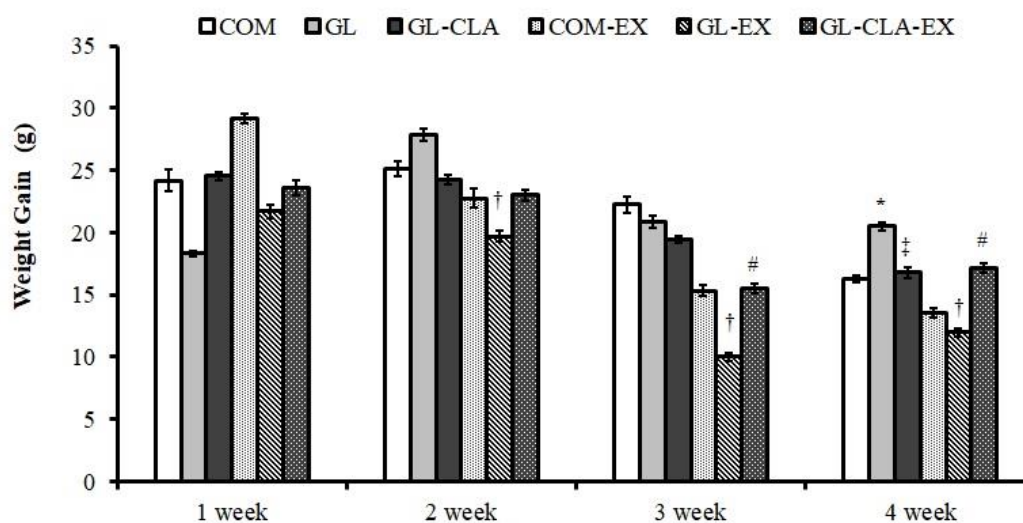


Figure 3: Weekly weight gain of the experimental groups ($n=10/\text{group}$). Data are mean $\pm$ SEM values ($n = 10$ per treatment group). (*) indicates difference ($p < 0.05$) versus CON; (#) indicates difference ($p < 0.05$) versus GM; (†) indicates difference between exercised vs sedentary groups; (#) indicates difference ($p < 0.05$) versus GM-CLA (One-Way ANOVA) ($p < 0.05$); CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: sedentary goat's milk fat with increased source of CLA; CON-EX: exercised control; GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA-EX: exercised goat's milk fat with increased source of CLA.

3.3. Murinometric parameters, body composition and deposition of adipose tissue

The murine parameters (BMI, AC and TT) did not present statistical differences ($p > 0.05$) between the investigated groups (Table 2). The accumulation of mesenteric fat (Table 2) was higher in the GM than the CON group ($p < 0.05$); and the amount of epididymal fat was also higher in GM-CLA compared to the control group ($p < 0.05$). The GM presented greater accumulation of retroperitoneal fat than the CON and the GM-CLA ($p < 0.05$). In the exercised groups, the amount of mesenteric fat was lower in the groups treated with goat's milk fat (GM-

EX and GM-CLA-EX) compared to CON-EX ($p < 0.05$). However, the amount of retroperitoneal fat remained higher in the GM-EX compared to the COM-EX and GM-CLA-EX groups ($p < 0.05$). Exercised animals treated with goat's milk fat (GM-EX, GM-CLA-EX) presented a mesenteric fat reduction compared to the respective sedentary groups (GM and GM-CLA) ($p < 0.05$). The amount of epididymal fat was lower in the exercised groups (CON-EX and GM-CLA-EX) compared to the sedentary groups (CON and GM-CLA) ($p < 0.05$). All exercised groups (CON-EX, GM-EX and GM-CLA-EX) presented a lower amount of retroperitoneal fat compared to the respective sedentary groups (CON, GM, GM-CLA) ($p < 0.05$). The body adiposity index was higher in the sedentary GM and GM-CLA groups compared to the CON-EX group ($p < 0.05$). However, when exercise was associated with the diet, the GM-EX and GM-CLA-EX groups had a lower adiposity index compared to GM-CLA and GM ($p < 0.05$).

Regarding body composition (Table 2), no differences were observed in the percentage of total fats and total carcass proteins for the evaluated sedentary groups ($p > 0.05$). Among those exercised, the GM-CLA-EX group presented lower percentage of body fat compared to the CON-EX ($p < 0.05$), but did not differ from GM-EX. The fat percentage in the groups fed GM-EX and GM-CLA-EX goat's milk fat were lower than their respective GM and GM-CLA sedentary groups ($p < 0.05$). Body protein was lower in GM-CLA-EX compared to GM-EX ($p < 0.05$) but did not differ from the CON-EX group.

The exercise effect was verified considering the mean of all exercise groups (EX) versus the mean values of all sedentary groups (SED). Regarding the murinometric parameters, it was observed that all the exercised groups (EX) had lower values of BMI, AC and TT ($p < 0.05$) compared to SEDs. There was also a lower deposit of mesenteric, retroperitoneal and epididimal fat, and consequent lower BAI and carcass fat percentage in the EX group when

compared to sedentary animals (SED) ($p < 0.05$). However, a higher percentage of proteins in the carcass was observed in the EX compared to the SED group ($p < 0.05$).

Table 2 Murinometric parameters and body composition of rats treated with goat's milk fa submitted or not to aerobic physical exercise

	Sedentary			Exercised			Exercise Effect	
	CON	GM	GM-CLA	CON-EX	GM-EX	GM-CLA-EX	SED (n = 30)	EXE (n= 30)
Murinometria								
BMI (g/cm ²)	0.72 ± 0.01	0.71 ± 0.02	0.66 ± 0.02	0.63 ± 0.02	0.64 ± 0.01	0.63 ± 0.02	0.7 ± 0.01 ^a	0.6 ± 0.01 ^b
AC (cm)	17.4 ± 0.3	17.3 ± 0.4	17.3 ± 0.3	16.7 ± 0.2	16.0 ± 0.2	16.6 ± 0.4	17.3 ± 0.2 ^a	16.4 ± 0.2 ^b
TT(cm)	15.5 ± 0.3	15.3 ± 0.3	15.5 ± 0.3	15.1 ± 0.2	14.2 ± 0.2	14.8 ± 0.2	15.3 ± 0.2 ^a	14.7 ± 0.2 ^b
Body composition								
Protein (%)	18.5 ± 0.2 ^a	18.8 ± 0.2 ^a	18.0 ± 0.2 ^a	19.0 ± 0.4 ^{ab}	19.9 ± 0.3 ^{b†}	18.7 ± 0.2 ^a	18.4 ± 0.1 ^a	19.1 ± 0.2 ^b
Lipids (%)	11.95 ± 0.6 ^a	11.23 ± 0.6 ^a	11.68 ± 0.6 ^a	10.40 ± 0.5 ^a	9.73 ± 0.5 ^{ab†}	8.91 ± 0.3 ^{b†}	11.6 ± 0.4 ^a	9.6 ± 0.3 ^b
Mesenteric Fat (g)	5.7 ± 1.0 ^a	7.35 ± 0.5 ^b	6.7 ± 0.7 ^{ab}	6.4 ± 1.2 ^{ab}	5.4 ± 0.6 ^{c†}	5.7 ± 0.4 ^{c†}	6.6 ± 1.2 ^a	5.8 ± 1.0 ^b
Epididimal Fat (g)	5.1 ± 0.8 ^a	5.6 ± 0.9 ^{ab}	6.5 ± 0.6 ^b	3.9 ± 0.7 ^{a†}	4.8 ± 0.8 ^a	4.0 ± 0.6 ^{a†}	5.7 ± 1.1 ^a	4.2 ± 0.9 ^b
Retroperitoneal Fat (g)	7.1 ± 1.0 ^a	9.8 ± 0.7 ^b	8.2 ± 0.9 ^{ac}	4.8 ± 0.7 ^{d†}	7.0 ± 1.0 ^{c†}	4.9 ± 0.9 ^{d†}	8.4 ± 1.6 ^a	5.5 ± 1.4 ^b
BAI (g)	4.6 ± 0.2 ^a	6.4 ± 0.17 ^b	6.3 ± 0.1 ^b	5.0 ± 0.2 ^a	5.8 ± 0.2 ^{a†}	5.1 ± 0.2 ^{a†}	6.3 ± 0.2 ^a	5.2 ± 0.2 ^b

Data are mean ± SEM values (n = 10 per treatment group).

^{abcd} Different letters between line indicate difference between groups (One-Way ANOVA) (p<0.05);

Exercise Effect: SED: mean values of all sedentary groups; EX: mean values of all exercised groups

^{ab} Different letters between line indicate difference between groups (Test t) (p<0.05);

† indicates difference between exercised vs sedentary groups.

CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: goat's milk fat with increased source of CLA; CON-EX: exercised control; GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA: exercised goat's milk fat with increased source of CLA; BMI: Body mass index; AC: Abdominal circumference; TT: Thoracic circumference; BAI: Body Adiposity Index;

3.4. Biochemical Evaluation

The results of the biochemical analyzes are presented in Table 3. Serum glucose levels were elevated in the sedentary groups that consumed diets with goat's milk fat compared to the CON group ($p < 0.05$). There were no significant differences in blood glucose levels between the studied exercised groups ($p > 0.05$). However, physical exercise controlled the glycemia levels of the GM-EX and GM-CLA-EX groups compared to their respective GM and GM-CLA sedentary groups ($p < 0.05$). Regarding triglyceride levels, there was a reduction in the GM-CLA group compared to the other sedentary groups ($p < 0.05$). Among the exercised groups, triglyceride levels were not lower in the GM-EX compared to the CON-EX group ($p < 0.05$). In contrast, GM-CLA-EX also had lower levels of TG compared to CON-EX but was higher than GM-EX ($p < 0.05$). Regarding total cholesterol levels among sedentary individuals, only the GM-CLA group had lower values compared to the other sedentary groups ($p < 0.05$). There was no difference between the other groups ($p > 0.05$). HDL levels were significantly lower in GM compared to CON ($p < 0.05$), but the level of HDL in GM-EX was higher than GM when associated with exercise ($p < 0.05$). No statistical differences were found for the LDL cholesterol values between the evaluated experimental groups ($p > 0.05$).

The TG/HDL ratio was lower in the GM-CLA group compared to the CON and GM ($p < 0.05$). Among the groups exercised, the TG / HDL ratio was lower in the GM-EX and GM-CLA-EX groups, compared to the CON-EX ($p > 0.05$). The TG/HDL ratio in the CON-EX and GM-EX groups were lower than their respective CON and GM ($p < 0.05$). The CT/HDL ratio in the sedentary groups fed goat's milk fat (GM and GM-CLA) was higher than the CON ($p < 0.05$). The atherogenic index of GM was higher than all evaluated experimental groups ($p < 0.05$). This index was also higher in GM-EX compared to CON-EX, but lower than GM in the exercised groups ($p < 0.05$). It was verified that the exercise was effective in reducing glycemia levels,

triglycerides, and atherogenic indexes (TG/HDL and CT/HDL), and promoted an increase in HDL in the EX group compared to SED ($p < 0.05$).

Table 3. Biochemical parameters of rats treated with goat's milk fat submitted or not submitted to physical aerobic exercise.

	Sedentary			Exercised			Effect of exercise	
	CON	GM	GM-CLA	CON-EX	GM-EX	GM-CLA-EX	SED	EX
Serum metabolites								
Glicemia	250.5 ± 10.1 ^a	291.5 ± 10.1 ^b	322.5 ± 12.8 ^b	254.7 ± 13.8 ^a	231.5 ± 9.9 ^{a†}	259.8 ± 9.5 ^{a†}	288.7 ± 10.4 ^a	248.9 ± 8.7 ^b
Triglicerídeos	65.3 ± 12.9 ^a	77.9 ± 6.7 ^a	57.9 ± 9.7 ^b	62.7 ± 13.4 ^a	43.7 ± 9.5 ^{b†}	54.1 ± 3.0 ^c	66.3 ± 3.8 ^a	53.5 ± 3.2 ^b
Colesterol Total	59.7 ± 4.2 ^a	59.8 ± 4.6 ^a	40.2 ± 3.2 ^b	48.3 ± 4.5 ^a	51.7 ± 5.3 ^a	54.3 ± 3.3 ^a	54.1 ± 3.1 ^a	51.6 ± 3.6 ^a
HDL-colesterol	41.4 ± 4.1 ^a	21.6 ± 1.3 ^b	33.7 ± 3.2 ^{ab}	43.2 ± 2.6 ^a	51.6 ± 6.4 ^{a†}	48.7 ± 5.3 ^a	32.3 ± 3.2 ^a	47.2 ± 3.5 ^b
LDL – colesterol	40.1 ± 3.8 ^a	40.2 ± 3.3 ^a	30.4 ± 4.0 ^a	32.7 ± 5.7 ^a	38.8 ± 2.4 ^a	32.8 ± 3.7 ^a	37.1 ± 2.8 ^a	34.6 ± 3.4 ^a
TG/HDL	2.7 ± 0.3 ^a	3.1 ± 0.5 ^a	0.9 ± 0.1 ^b	1.3 ± 0.1 ^{c†}	0.6 ± 0.1 ^{d†}	0.72 ± 0.04 ^{bd}	2.3 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.4 ^b
CT/HDL	1.1 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.2 ^b	1.8 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.1 ^a	1.8 ± 0.2 ^{d†}	0.7 ± 0.1 ^{ae†}	1.7 ± 0.2 ^a	0.9 ± 0.1 ^b

Data are mean ± SEM values (n = 10 per treatment group).

^{abcde} Different letters between columns indicate difference between groups (One-Way ANOVA) (p<0.05);

† indicates difference between exercised vs sedentary groups.

Exercise Effect: SED: mean values of all sedentary groups; EX: mean values of all exercised groups

^{ab} Different letters between line indicate difference between groups (Test t) (p<0.05);

CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: goat's milk fat with increased source of CLA; CON-EX: exercised control;

GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA: exercised goat's milk fat with increased source of CLA; TG: triglycerides; TC: total cholesterol;

3.5. Malonaldehyde Levels and Glutathione Muscle

The sedentary groups that consumed goat's milk fat (GM and GM-CLA) had high malonaldehyde levels compared to the CON ($p < 0.05$) (Figure 4A). In the animals submitted to physical exercise, the CON-EX was larger than the CON ($p < 0.05$). The GM-EX group presented superior results to all analyzed groups ($p < 0.05$).

Total GSH levels in the gastrocnemius muscle (Figure 4B) were elevated in the GM group, compared to the CON and GM-CLA ($p < 0.05$). When physical training was associated, it was found that GSH levels were higher in the CON-EX and GM-EX groups relative to their respective CON and GM groups ($p < 0.05$). However, GSH levels in GM-EX were still higher when compared to CON-EX and GM-CLA-EX but did not differ from GM ($p < 0.05$). The animals treated with goat's milk fat (GM and GM-EX) presented higher values compared to the other groups ($p < 0.05$).

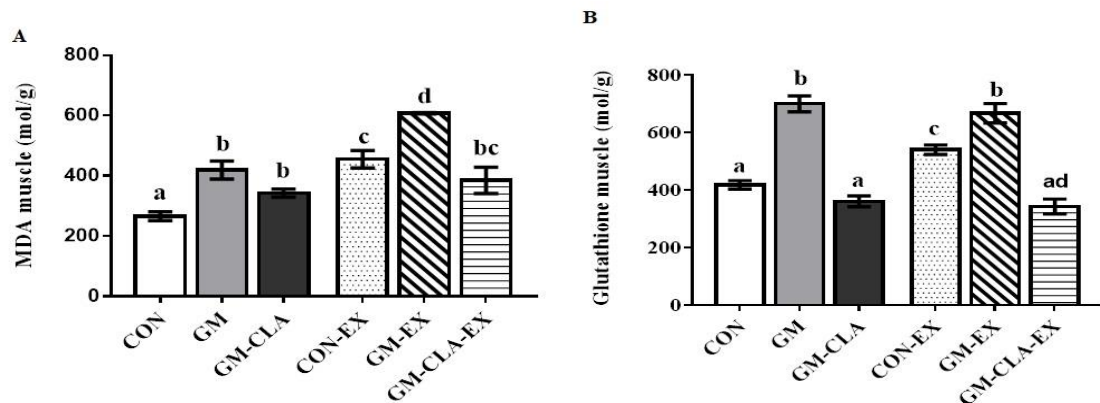


Figure 4: MDA and GSH muscular levels of the experimental groups. Data are mean $\pm$ SEM values ($n = 10$ per treatment group). ^{abcde} Different letters between columns indicate difference between groups (One-Way ANOVA) ($p < 0.05$); CON: sedentary control; GM: sedentary goat's milk fat; GM-CLA: sedentary goat's milk fat with increased source of CLA; CON-EX: exercised control; GM-EX: exercised goat's milk fat; GM-CLA-EX: exercised goat's milk fat with increased source of CLA;

4. DISCUSSION

Sedentary lifestyle and unbalanced eating are factors that can trigger obesity and dyslipidemia. In this sense, the population has sought different solutions such as regular practice of physical exercise and the use of foods with a potential ergogenic effect, which induces a reduction of body fat and body weight control. In the present study, the consumption of goat's milk fat associated with physical training reduced body weight gain, modulated the lipid profile and caused a reduction in body fat in rats.

Goat's milk fat has excellent quality and quantity of fatty acids such as medium-chain saturated fatty acids (MCFAs) and CLA, thus characterizing a food with a functional effect in the body (Getaneh et al., 2016). A study with humans found that CLA and medium-chain triglyceride (MCT) supplementation increased satiety and reduced food intake, indicating that these lipids influence maintaining an energy balance (Coleman, Quinn & Clegg, 2016). In the present study, there were no significant differences in weekly food intake among the evaluated groups. Contrary data were found by Rodrigues et al. (2014), who observed higher food intake in growing rats consuming a naturally-enriched goat's milk-based diet with CLA. However, in the study by Rodrigues et al. (2014), the rats were growing and hyperphagia is common, but in the present study the animals were adults. Physical exercise may also induce hyperphagia, but this effect was not observed in the present study and corroborates the results of some studies that also showed that the combination of commercial CLA supplementation and physical exercise did not modify food intake among the evaluated groups (Kim, Kim & Park, 2016; Salgado et al., 2012; Kim et al., 2010).

Although there was no reduction in food intake, the body weight of the exercised groups fed GM-EX and GM-CLA-EX goat's milk fat was lower in the last weeks of the experiment. This finding is justified, since physical exercise increases lipid oxidation due to the increase in energy demand (Jeukendrup, 2002). However, this effect was potentiated when exercise was

associated with consumption of goat's milk fat. The reduction in body weight gain was observed in studies with rats treated with 0.5% synthetic CLA and submitted to treadmill exercise (Salgado et al., 2012). Other research has observed this same result in the body weight gain of animals in both the sedentary and exercised groups treated with 5% CLA and practicing endurance exercise (Kim et al., 2016). In the present study, the GM diet had 0.34% of CLA and GM-CLA 1.69%, meaning that when the diet with lower CLA content was associated with exercise (GM-EX), the animals presented lower weight gain, assuming that the higher CLA concentration in the diet did not influence the weight gain. The hypothesis that CLA supplementation may decrease dietary intake and consequently contribute in body weight control remains controversial, and CLA is considered a low-impact dietary supplement for body weight loss in human studies (Kreider et al., 2010). However, only lower body weight was verified when physical training was associated with goat's milk fat diets, especially in the GM-EX group which presented lower weight gain compared to GM-CLA-EX in the last two weeks of the experiment. It is noteworthy that the GM and GM-EX groups received the same diet, which contained a lower CLA content and a higher percentage of MCFAs compared to the GM-CLA-EX diet.

A dietary intake of MCFAs has induced a reduction in body weight, waist and hip circumference, total body fat, subcutaneous fat and visceral fat in humans (Mumme & Stonehouse, 2015) and in animals (Liu et al., 2011). MCFAs easily cross the mitochondrial membrane and are rapidly oxidized. Therefore, the oxidation of MCFAs is greater than that of saturated long chain fatty acids (LCFAs) both in rodents (Noguchi et al., 2002) and in humans (Stonge et al., 2003). Due to the faster oxidation of MCFAs, they are not stored in adipose tissue (Schönfeld & Wojtczak, 2016). Although goats' milk fats have an excellent amount of MCFAs, the body fat deposits of the rats treated with these diets increased in the sedentary animals, but there was a reduction when the diet was associated with physical training.

The quality and quantity of different fatty acids can promote different metabolic behaviors such as changes in oxidation rates and fat deposition. High PUFA: SFA and MUFA: SFA ratios were important to prevent an increase in body weight and accumulation of epididymal and retroperitoneal adipose tissues in hamsters (Yang et al., 2016). This relationship may also improve diet-induced thermogenesis and postprandial fat oxidation which prevent fat accumulation (Takeuchi et al., 1995; LIAO et al., 2010). In our study, although goat's milk fat (GM and GM-CLA) presented excellent MCFAs, they also contained a high amount of saturated long chain fatty acids and a very low proportion of PUFA:SFA and MUFA:SFA (Table 1), which may justify this resistance in reducing these fat deposits in sedentary animals.

The mesenteric, epididimal and retroperitoneal adipose tissue contents were lower when submitted to aerobic physical training (GM-EX and GM-CLA-EX), indicating a positive effect of exercise and diet combination on body fat control. Corroborating our results, Ooyama et al. (2008) verified that the combined intervention with medium-chain triglycerides in the diet and physical training resulted in reduced adipose tissue accumulation. A considerable reduction in the adipose tissue weight of animals submitted to treadmill exercise and treated with commercial CLA was also observed (Salgado et al., 2012).

Regardless of the type of dietary treatment adapted, it was found that the physical training to which the EX animals of the present study were submitted was able to induce a reduction of body weight, BMI, waist circumference and thoracic circumference, as well as adipose tissue, body fat index and carcass fat percentage compared to the sedentary group (SED). This effect of moderate intensity exercise is justified by this type of training to increase thermogenesis, lipolysis and β -oxidation (Jeukendrup, 2002; Spriet, 2014). During long-term exercise, fatty acids from adipose tissue, plasma, and muscle triglyceride (TGm), which represent a considerable portion of the lipids used during aerobic exercise, are oxidized (RomiJin et al., 2000; Horowitz & Klein, 2000).

However, the percentage of body proteins was higher only in GM-EX compared to GM and GM-CLA-EX. The GM group was fed a diet that had a higher amount of medium chain fatty acids and a lower amount of CLA than GM-CLA. The combination of aerobic exercise associated with isolated or mixed supplementation of CLA isomers did not promote changes in the percentage of body protein in rats compared to the control group (Mirand et al., 2004; Salgado et al., 2012). Corroborating with the data of the present study, in which the GM-CLA-EX group that had a higher CLA content did not favor an increase in lean mass. On the other hand, GM-EX which has lower levels of CLA compared to GM-CLA-EX was treated with a diet with higher levels of MCTs. Some studies have shown that dietary intake of MCTs may improve muscle mass in the elderly (Abe et al., 2016) and in elderly rats (Nishimura et al., 2016). In this sense, it is assumed that the higher proportion of the medium-chain saturated fatty acids offered to the GM-EX would be functioning as a fast energy source (Tunner et al., 2009; Montgomery et al., 2013), promoting a protein-sparing effect in the body.

The effects of MCTs on glucose metabolism in animals have already been investigated. In the present study, it was found that mice fed a diet containing MCTs had lower body fat accumulation and better glucose tolerance than rats fed a diet containing long chain triglycerides (LCTs). The long-chain saturated fatty acids (LCFAs) in the diet clearly impair insulin sensitivity and lipid metabolism, whereas MCFAs appear to improve insulin resistance and glucose uptake by the muscle (Wein et al., 2009; Tuner et al., 2009). The consumption of goat's milk fat diets in the sedentary animals increased glycemia, corroborating the results obtained by Rodrigues et al. (2014) who also used goat's milk fat in growing animals. Although the diets with goat's milk fat (GM and GM-CLA) had excellent amounts of medium- and short-chain fatty acids, they also had high proportions of long-chain palmitic and stearic fatty acids respectively (25.52 and 21.17 %).

The presence of high proportions of saturated fatty acids such as palmitic and stearic acids may decrease insulin sensitivity by skeletal muscles and impair glucose absorption by muscle (Hirabara et al., 2012). This was demonstrated by Farinã et al. (2014), who treated mice with palmitic acid and observed impairment in glucose metabolism. When these animals were treated with palmitic acid along with CLA, there was increased glucose uptake by the muscle. In the present study, CLA levels in GM (0.34%) and GM-CLA (1.6%) were lower than those used by Farina et al. (2014) (5.6%), being insufficient to reverse the damage to the glucose metabolism caused by saturated fat. However, when physical training was associated with dietary treatment, a reduction in the glycemia levels of the GM-EX and GM-CLA-EX groups was observed compared to their respective sedentary groups. These findings are attributed to physical training, which increases the uptake and utilization of circulating glucose and improves insulin sensitivity, and thus, several independent insulin-independent biochemical mechanisms are activated for glucose uptake by muscles (Stanford & Goodyear, 2014)

Dietary fatty acids can promote profound effects on the metabolism of plasma lipoproteins, preventing atherosclerosis (Willett, 2012). In the present study, the diet with goat's milk fat with increased CLA (GM-CLA) induced lower levels of triglycerides and total cholesterol compared to the other sedentary groups. These results suggest that the dietary treatment with clarified butter with low and high concentration of CLA promoted a reduction in plasma levels of total cholesterol, triglycerides and also an elevation of HDL cholesterol in rats (Chinnadurai et al., 2013). It should be noted that clarified butters also have medium-chain saturated fatty acids, which also have effects on reducing triglycerides and total cholesterol levels (Sengupta & Ghosh; 2011). One of the action mechanisms of CLA in reducing triglycerides occurs through suppression of PPAR γ activity (Kenedy et al., 2010). Chinnadurai et al. (2013) attributed the elevation of HDL cholesterol to the higher supply of oleic acid (C18:1n9) present in the diet with clarified butter (27.61%). In contrast, no changes were

observed in serum HDL levels in the sedentary groups that consumed goat's milk fat diets in our study, even with high concentrations of oleic acid (30.82%), which may be related to the high proportion of long-chain saturated fatty acids on the monounsaturated and polyunsaturated fatty acids.

Moderate aerobic exercise may increase the ability of skeletal muscles to utilize lipids, thereby reducing plasma lipid levels (Earnest et al., 2013; Mann, Christopher; Jimenez, 2014). This effect was observed in the triglyceride levels that were reduced in the GM-EX and GM-CLA-EX groups compared to the CON-EX. However, dietary combined exercise therapy was more effective in reducing triglyceride and elevating HDL only in GM-EX compared to its respective sedentary (GM) group. These findings may be warranted by research that demonstrated that four-week aerobic training induced plasma triglyceride reduction and significant elevation in LXR α gene expression, which is associated with improved reverse cholesterol transport, resulting in elevated plasma HDL-C (Kazeminasab et al., 2017). Furthermore, MCFC supplementation is also involved in the process of reverse cholesterol transport, increasing HDL and preventing the development of atherosclerosis (ZHANG et al., 2016).

The TG/HDL and CT/HDL indices are described as strong markers of atherogenic dyslipidemia (total cholesterol, triglycerides, LDL levels and reduced HDL), which may predict the risk of CVD (Ajiboye et al., 2015; Niroumand et al., 2015, Hemmati et al., 2015). In the present study, the TG/HDL ratio in the GM-CLA group was lower compared to the other sedentary groups. When the physical training was combined with the experimental diets, there was an improvement in this ratio, except for the GM-CLA-EX group that maintained values similar to the respective sedentary group. On the other hand, the CT/HDL values were higher in all animals fed with goat's milk fat than in the control groups. However, with physical training the values of GM-EX and GM-CLA-EX were lower than their respective sedentary groups,

indicating a positive effect of the exercise in improving this factor. Regular physical activity promotes a reduction of the atherogenic index due to the improvement in the plasma lipid profile (Niroumand et al., 2015).

When we evaluated the MDA levels in the gastrocnemius muscle, it was observed that all the groups submitted to exercise had higher values compared to their respective sedentary groups. MDA is related to lipid oxidation. According to Jackson, Vasilaki and McArdle (2016), exercise increases the intensity of muscle contraction and consequent increase of free radical accumulation, which can oxidize the lipids present in the membrane, thus resulting in a chain of reactions called "lipid peroxidation" (Preta et al., 2010).

Some studies have reported that CLA protects against oxidative stress and lipid peroxidation in animal models (Kim et al., 2005; Moon et al., 2009), but this protective effect was not found in the present study. Silva et al. (2015) found that the increase of oxidative stress in aerobic training depends on the intensity and duration of the exercise session. Different from our results, they verified that rats submitted to the exercise protocols presented reduced MDA compared to the control group. But muscle MDA values were significantly higher in those who performed moderate treadmill exercise protocol compared to those who did mild aerobic training. Chae et al. (2008) also found that the combined supplementation of lipoic acid with treadmill aerobic exercise inhibited lipid peroxidation in soleus and gastrocnemius muscles. However, we did not supplement the animals with lipids; in our research we modified the quality of the fat and not the quantity. In addition, when we evaluated the training protocols of the afore mentioned research, Silva et al. (2015) submitted the animals to 8 weeks of exercise at a speed of 16m/min and 45 min/day. Chae et al. (2008) adopted the 8-week exercise protocol at a rate of 24 to 26 m/min and 30 min/day. In the present research, we subjected the exercised animals to exercise for 4 weeks at a speed of 20m/min and 50 min/day. These results differ from those obtained in our research due to changes in exercise duration and speed. In fact, the

results are highly dependent on several parameters such as the exercise protocol (type, duration and frequency), species and strain, age, tissue and gender (Silva et al., 2009; Pinho et al., 2012).

Another interesting fact is that since moderate aerobic exercise causes oxidative stress, it can also trigger adaptations in the antioxidant system in the muscles, promoting an increase of GSH and other antioxidant enzymes to prevent oxidative damage (Close et al. 2007; Nyberg et al. 2014; Farhat et al., 2015). In the present study, physical training increased levels of muscle glutathione (GSH) in the CON-EX groups compared to their respective sedentary groups. Levels were significantly higher in GM and GM-EX compared to the other groups, and lower in GM-CLA and GM-CLA-EX groups, but similar to each other. These findings demonstrate that goat's milk fat independent of exercise was able to improve the effect of GSH on muscle, and the same result was not observed in animals that consumed goat's milk fat with increased CLA content. Therefore, it is assumed that the lipid composition of the diet with lower CLA content and higher amount of medium- and short-chain fatty acids may influence the elevation of GSH levels. However, physical training did not demonstrate an effective effect on GSH increase in the GM-EX and GM-CLA-EX experimental groups. The activity of the antioxidant system may be increased (Powers et al., 1994) or unchanged (Gul et al., 2006) due to the various changes in intensity, duration and muscle fiber used in training.

The results of the present study confirm that goat's milk fat associated with physical training reduces body weight gain, thereby reducing body fat and risk factors for atherosclerosis. The CLA content in the diet did not influence these results, since it did not differ from the results of the diet with lower CLA content. It is assumed that the composition of medium-chain saturated fatty acids present in goat's milk fat had an additional effect on improving the evaluated parameters specifically when associated with physical training, except in relation to controlling lipid peroxidation. However, as it promoted increased lipid peroxidation, goat's milk fat was effective in the antioxidant system, promoting an increase of

GSH in the muscle. This fact is extremely important because reducing the antioxidant system makes the tissues much more vulnerable to oxidative stress.

5. Conclusion

The results of the present study confirm that goat's milk fat associated with physical training reduces body weight gain, reducing body fat and reducing risk factors for atherosclerosis. The CLA content in the diet did not influence these results, since it did not differ from the results of the diet with lower CLA content. It is assumed that the composition of medium-chain saturated fatty acids presents in goat's milk fat had an additional effect on the improvement of the parameters evaluated specifically when associated with physical training, except in relation to the control of lipid peroxidation. However, as it promoted increased lipid peroxidation, goat's milk fat was effective in the antioxidant system, promoting the increase of GSH in the muscle. This fact is extremely important because reducing the antioxidant system makes the tissues much more vulnerable to oxidative stress.

The data demonstrated that treatment with goat's milk fat associated with exercise in rats aided in controlling body weight gain, decreasing the accumulation of body fat and improving anti-atherogenic factors. This effect was not observed when there was an increase in the levels of CLA naturally in goat fat. Thus, we can infer that goat's milk fat without changes in CLA levels can prevent an increase in body weight and decrease the risk of atherosclerosis when associated with physical training.

Statement of interest

None.

Acknowledgments

REFERENCES

- A.O.A.C. Latimer, G. W. (2012). *Official methods of analysis of AOAC International* (No. 543/L357). AOAC international.
- Abe, S., Ezaki, O., & Suzuki, M. (2016). Medium-chain triglycerides in combination with leucine and vitamin D increase muscle strength and function in frail elderly adults in a randomized controlled trial. *The Journal of nutrition*, 146(5), 1017-1026.
- Ajiboye, J. A., Erukainure, O. L., Lawal, B. A., Nwachukwu, V. A., Tugbobo-Amisu, A. O., & Okafor, E. N. (2015). Comparative alteration in atherogenic indices and hypocholesteremic effect of palm oil and palm oil mill effluent in normal albino rats. *Heliyon*, 1(1), e00010.
- Anderson, M. E. (1985). [70] Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in enzymology*, 113, 548-555.
- Andreoli, M. F., Gonzalez, M. A., Martinelli, M. I., Mocchiutti, N. O., & Bernal, C. A. (2009). Effects of dietary conjugated linoleic acid at high-fat levels on triacylglycerol regulation in mice. *Nutrition*, 25(4), 445-452.
- Basiricò, L., Morera, P., Dipasquale, D., Tröscher, A., & Bernabucci, U. (2017). Comparison between conjugated linoleic acid and essential fatty acids in preventing oxidative stress in bovine mammary epithelial cells. *Journal of dairy science*, 100(3), 2299-2309.
- Batista-de-Oliveira, M., Lopes, A. A. C., Mendes-da-Silva, R. F., & Guedes, R. C. A. (2012). Aging-dependent brain electrophysiological effects in rats after distinct lactation conditions, and treadmill exercise: a spreading depression analysis. *Experimental gerontology*, 47(6), 452-457.
- Bauman, D. E., & Lock, A. L. (2006). Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance. In *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (pp. 93-136). Springer US.
- Casey, J. M., Banz, W. J., Krul, E. S., Butteiger, D. N., Goldstein, D. A., & Davis, J. E. (2013). Effect of stearidonic acid-enriched soybean oil on fatty acid profile and metabolic parameters in lean and obese Zucker rats. *Lipids in health and disease*, 12(1), 147.
- Castelli, W. P. (1988). Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. *The Canadian journal of cardiology*, 4, 5A-10A.
- Chae, C. H., Shin, C. H., & Kim, H. T. (2008). The combination of α -lipoic acid supplementation and aerobic exercise inhibits lipid peroxidation in rat skeletal muscles. *Nutrition research*, 28(6), 399-405.
- Chinese hypertriglycerideamic subjects of different ages responded differently to consuming oil with medium-and long-chain fatty acids. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(8), 1711-1717.

- Chinnadurai, K., Kanwal, H. K., Tyagi, A. K., Stanton, C., & Ross, P. (2013). High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. *Lipids in health and disease*, 12(1), 121.
- Close, G. L., Kayani, A. C., Ashton, T., McArdle, A., & Jackson, M. J. (2007). Release of superoxide from skeletal muscle of adult and old mice: an experimental test of the reductive hotspot hypothesis. *Aging cell*, 6(2), 189-195.
- Coleman, H., Quinn, P., & Clegg, M. E. (2016). Medium-chain triglycerides and conjugated linoleic acids in beverage form increase satiety and reduce food intake in humans. *Nutrition research*, 36(6), 526-533.
- da Silva Marineli, R., Furlan, C. P. B., & Maróstica, M. R. (2012). Antioxidant effects of the combination of conjugated linoleic acid and phytosterol supplementation in Sprague–Dawley rats. *Food research international*, 49(1), 487-493.
- da Silva, S. G., Doná, F., da Silva Fernandes, M. J., Scorza, F. A., Cavaleiro, E. A., & Arida, R. M. (2010). Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain and Development*, 32(2), 137-142.
- de Assis, P. O. A., Guerra, G. C. B., de Souza Araújo, D. F., de Araújo Júnior, R. F., Machado, T. A. D. G., de Araújo, A. A., ... & do Egypto, R. D. C. R. (2016). Intestinal anti-inflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. *International Dairy Journal*, 56, 45-54.
- Dishman, R. K., Armstrong, R. B., Delp, M. D., Graham, R. E., & Dunn, A. L. (1988). Open-field behavior is not related to treadmill performance in exercising rats. *Physiology & behavior*, 43(5), 541-546.
- Duclos, M., Virally, M. L., & Dejager, S. (2011). Exercise in the management of type 2 diabetes mellitus: what are the benefits and how does it work?. *The Physician and sportsmedicine*, 39(2), 98-106.
- Earnest, C. P., Artero, E. G., Sui, X., Lee, D. C., Church, T. S., & Blair, S. N. (2013, March). Maximal estimated cardiorespiratory fitness, cardiometabolic risk factors, and metabolic syndrome in the aerobics center longitudinal study. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 88, No. 3, pp. 259-270). Elsevier.
- Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H. (1990). [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*, 186, 407-421.
- Farhat, F., Dupas, J., Amérand, A., Goanvec, C., Feray, A., Simon, B., ... & Moisan, C. (2015). Effect of exercise training on oxidative stress and mitochondrial function in rat heart and gastrocnemius muscle. *Redox Report*, 20(2), 60-68.

- Fariña, A. C., Hirabara, S., Sain, J., Latorre, M. E., González, M., Curi, R., & Bernal, C. (2014). Conjugated linoleic acid improves glucose utilization in the soleus muscle of rats fed linoleic acid–enriched and linoleic acid–deprived diets. *Nutrition Research*, 34(12), 1092-1100.
- Ferreira, L., Lisenko, K., Barros, B., Zangeronimo, M., Pereira, L., & Sousa, R. (2014). Influence of medium-chain triglycerides on consumption and weight gain in rats: a systematic review. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(1), 1-8.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Fukao, K., Shimada, K., Naito, H., Sumiyoshi, K., Inoue, N., Iesaki, T., ... & Matsumori, R. (2010). Voluntary exercise ameliorates the progression of atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 17(12), 1226-1236.
- Gaziano, J. M., Hennekens, C. H., O'Donnell, C. J., Breslow, J. L., & Buring, J. E. (1997).. *Circulation*, 96(8), 2520-2525.
- Getaneh, G., Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction Mebrat, A., Wubie, A., & Kendie, H. (2016). Review on Goat Milk Composition and Its Nutritive Value. *J Nutr Health Sci*, 3(4), 401.
- Gonzalez, S., Duncan, S. E., O'Keefe, S. F., Sumner, S. S., & Herbein, J. H. (2003). Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. *Journal of Dairy Science*, 86(1), 70-77.
- Gul, M., Demircan, B., Taysi, S., Oztasan, N., Gumustekin, K., Siktar, E., ... & Dane, S. (2006). Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 143(2), 239-245.
- Hamilton, M., Hopkins, L. E., AlZahal, O., MacDonald, T. L., Cervone, D. T., Wright, D. C., ... & Dyck, D. J. (2015). Feeding butter with elevated content of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid to obese-prone rats impairs glucose and insulin tolerance. *Lipids in health and disease*, 14(1), 119.
- Hemmati, M., Zohoori, E., Mehrpour, O., Karamian, M., Asghari, S., Zarban, A., & Nasouti, R. (2015). Anti-atherogenic potential of jujube, saffron and barberry: Anti-diabetic and antioxidant actions. *EXCLI journal*, 14, 908.

- Hirabara, S. M., Curi, R., & Maechler, P. (2010). Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. *Journal of cellular physiology*, 222(1), 187-194.
- Jackson, M. J., Vasilaki, A., & McArdle, A. (2016). Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 13-17.
- Jeukendrup, A. E., Saris, W. H. M., & Wagenmakers, A. J. M. (1998). Fat metabolism during exercise: A review-Part II: Regulation of metabolism and the effects of training. *International journal of sports medicine*, 19(05), 293-302.
- Kazeminasab, F., Marandi, M., Ghaedi, K., Esfarjani, F., & Moshtaghian, J. (2017). Effects of A 4-Week Aerobic Exercise on Lipid Profile and Expression of LXR α in Rat Liver. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19(1), 45.
- Kennedy, A., Martinez, K., Schmidt, S., Mandrup, S., LaPoint, K., & McIntosh, M. (2010). Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *The Journal of nutritional biochemistry*, 21(3), 171-179.
- Kim, H. K., Kim, S. R., Ahn, J. Y., CHo, I. J., YooN, C. S., & HA, T. Y. (2005). Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 51(1), 8-15.
- Kim, J. H., Park, H. G., Pan, J. H., Kim, S. H., Yoon, H. G., Bae, G. S., ... & Kim, Y. J. (2010). Dietary conjugated linoleic acid increases endurance capacity of mice during treadmill exercise. *Journal of medicinal food*, 13(5), 1057-1060.
- Kim, S., & Kim, K. (2013). The effects of exercise and conjugated linoleic acid intake on IGF-1 and pro-inflammatory cytokines in atrophied skeletal muscle of rats. *Integrative Medicine Research*, 2(4), 166-173.
- Kim, Y., Kim, D., & Park, Y. (2016). Conjugated linoleic acid (CLA) promotes endurance capacity via peroxisome proliferator-activated receptor δ -mediated mechanism in mice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 38, 125-133.
- Kondreddy, V. K. R., Anikisetty, M., & Naidu, K. A. (2016). Medium-chain triglycerides and monounsaturated fatty acids potentiate the beneficial effects of fish oil on selected cardiovascular risk factors in rats. *The Journal of nutritional biochemistry*, 28, 91-102.
- Kreider, R. B., Wilborn, C. D., Taylor, L., Campbell, B., Almada, A. L., Collins, R., ... & Kerksick, C. M. (2010). ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 7(1), 7.

- Liao, F. H., Liou, T. H., Shieh, M. J., & Chien, Y. W. (2010). Effects of different ratios of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids on regulating body fat deposition in hamsters. *Nutrition*, 26(7), 811-817.
- Liu, Y. H., Wang, J., Zhang, R. X., Zhang, Y. H., Xu, Q., Zhang, J. Y., ... & Nosaka, N. (2009). A good response to oil with medium-and long-chain fatty acids in body fat and blood lipid profiles of male hypertriglyceridemic subjects. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 18(3), 351-358.
- Lock, A. L., Corl, B. A., Barbano, D. M., Bauman, D. E., & Ip, C. (2004). The anticarcinogenic effect of trans-11 18: 1 is dependent on its conversion to cis-9, trans-11 CLA by $\Delta 9$ -desaturase in rats. *The Journal of nutrition*, 134(10), 2698-2704
- Ma, L., Lengi, A. J., McGilliard, M. L., Bauman, D. E., & Corl, B. A. (2014). Effect of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on activation of lipogenic transcription factors in bovine mammary epithelial cells. *Journal of dairy science*, 97(8), 5001-5006.
- Malinska, H., Hüttl, M., Oliyarnyk, O., Bratova, M., & Kazdova, L. (2015). Conjugated linoleic acid reduces visceral and ectopic lipid accumulation and insulin resistance in chronic severe hypertriacylglycerolemia. *Nutrition*, 31(7), 1045-1051.
- Mann, S., Beedie, C., & Jimenez, A. (2014). Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Medicine*, 44(2), 211-221.
- Marten, B., Pfeuffer, M., & Schrezenmeir, J. (2006). Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16(11), 1374-1382.
- Mirand, P. P., Arnal-Bagnard, M. A., Mosoni, L., Faulconnier, Y., Chardigny, J. M., & Chilliard, Y. (2004). Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid isomers do not modify body composition in adult sedentary or exercised rats. *The Journal of nutrition*, 134(9), 2263-2269.
- Montgomery, M. K., Osborne, B., Brown, S. H., Small, L., Mitchell, T. W., Cooney, G. J., & Turner, N. (2013). Contrasting metabolic effects of medium-versus long-chain fatty acids in skeletal muscle. *Journal of lipid research*, 54(12), 3322-3333.
- Moon, H. S., Lee, H. G., Seo, J. H., Chung, C. S., Kim, T. G., Choi, Y. J., & Cho, C. S. (2009). Antiobesity effect of PEGylated conjugated linoleic acid on high-fat diet-induced obese C57BL/6J (ob/ob) mice: attenuation of insulin resistance and enhancement of antioxidant defenses. *The Journal of nutritional biochemistry*, 20(3), 187-194.

- Mumme, K., & Stonehouse, W. (2015). Effects of medium-chain triglycerides on weight loss and body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(2), 249-263.
- New York, NY: Raven Press
- Niroumand, S., Khajedaluee, M., Khadem-Rezaian, M., Abrishami, M., Juya, M., Khodae, G., & Dadgarmoghaddam, M. (2015). Atherogenic Index of Plasma (AIP): a marker of cardiovascular disease. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 29, 240.
- Nishimura, S., Inai, M., Takagi, T., Nonaka, Y., Urashima, S., Honda, K., ... & Terada, S. (2017). Preventive Effects of the Dietary Intake of Medium-chain Triacylglycerols on Immobilization-induced Muscle Atrophy in Rats. *Journal of oleo science*, 66(8), 917-924.
- Noguchi, O., Takeuchi, H., Kubota, F., Tsuji, H., & Aoyama, T. (2002). Larger diet-induced thermogenesis and less body fat accumulation in rats fed medium-chain triacylglycerols than in those fed long-chain triacylglycerols. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 48(6), 524-529.
- Novelli, E. L. B., Diniz, Y. S., Galhardi, C. M., Ebaid, G. M. X., Rodrigues, H. G., Mani, F., ... & Novelli Filho, J. L. V. B. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory animals*, 41(1), 111-119.
- Nyberg, M., Mortensen, S. P., Cabo, H., Gomez-Cabrera, M. C., Viña, J., & Hellsten, Y. (2014). Roles of sedentary aging and lifelong physical activity in exchange of glutathione across exercising human skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*, 73, 166-173.
- O'Shea, M., Bassaganya-Riera, J., & Mohede, I. C. (2004). Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *The American journal of clinical nutrition*, 79(6), 1199S-1206S.
- Ooyama, K., Wu, J., Nosaka, N., Aoyama, T., & Kasai, M. (2008). Combined intervention of medium-chain triacylglycerol diet and exercise reduces body fat mass and enhances energy expenditure in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 54(2), 136-141.
- Palmquist, D. L., & Jenkins, T. C. (2003). Challenges with fats and fatty acid methods. *Journal of animal science*, 81(12), 3250-3254.
- Pinho, C. A., Tromm, C. B., Tavares, A. M., Silva, L. A., Silveira, P. C. L., Souza, C. T., ... & Pinho, R. A. (2012). Effects of different physical training protocols on ventricular oxidative stress parameters in infarction-induced rats. *Life sciences*, 90(13), 553-559.

- Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J., Ji, L. L., Martin, D., Herb, R. A., & Dudley, G. (1994). Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 266(2), R375-R380.
- Preta, G., de Klark, R., Chakraborti, S., & Glas, R. (2010). MAP kinase-signaling controls nuclear translocation of tripeptidyl-peptidase II in response to DNA damage and oxidative stress. *Biochemical and biophysical research communications*, 399(3), 324-330.
- Quispe, R., Manalac, R. J., Faridi, K. F., Blaha, M. J., Toth, P. P., Kulkarni, K. R., ... & Martin, S. S. (2015). Relationship of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C) ratio to the remainder of the lipid profile: The Very Large Database of Lipids-4 (VLDL-4) study. *Atherosclerosis*, 242(1), 243-250.
- Reeves, P. G. (1993). Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-1951.
- Rodrigues, R., Soares, J., Garcia, H., Nascimento, C., Medeiros, M., Bomfim, M., ... & Queiroga, R. (2014). Goat milk fat naturally enriched with conjugated linoleic acid increased lipoproteins and reduced triacylglycerol in rats. *Molecules*, 19(3), 3820-3831.
- Romijn, J. A., Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Rosenblatt, J., & Wolfe, R. R. (2000). Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *Journal of Applied Physiology*, 88(5), 1707-1714.
- Salgado, J. M., Ferreira, T. R. B., Donado-Pestana, C. M., de Almeida, O. C., Das Neves, A. M. R., Mansi, D. N., & Dias, C. T. D. S. (2012). Conjugated linoleic acid combined with physical activity reduces body fat accumulation but does not modify lean body mass in male and female Wistar rats. *Journal of medicinal food*, 15(4), 406-412.
- Schönfeld, P., & Wojtczak, L. (2016). Short-and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *Journal of lipid research*, 57(6), 943-954.
- Sengupta, A., & Ghosh, M. (2011). Hypolipidemic effect of mustard oil enriched with medium chain fatty acid and polyunsaturated fatty acid. *Nutrition*, 27(11), 1183-1193.
- Shinohara, H., Fukumitsu, H., Seto, A., & Furukawa, S. (2013). Medium-chain fatty acid-containing dietary oil alleviates the depression-like behaviour in mice exposed to stress due to chronic forced swimming. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 601-606.
- Silva, L. A., Pinho, C. A., Scarabelot, K. S., Fraga, D. B., Volpato, A. M., Boeck, C. R., ... & Pinho, R. A. (2009). Physical exercise increases mitochondrial function and reduces

- oxidative damage in skeletal muscle. *European journal of applied physiology*, 105(6), 861-867.
- Spriet, L. L. (2014). New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sports medicine*, 44(1), 87-96.
- Stanford, K. I., & Goodyear, L. J. (2014). Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Advances in physiology education*, 38(4), 308-314.
- Stefanson, A., Hopkins, L. E., AlZahal, O., Ritchie, I. R., MacDonald, T., Wright, D. C., ... & Dyck, D. J. (2014). Feeding butter with elevated content of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid to lean rats does not impair glucose tolerance or muscle insulin response. *Lipids in health and disease*, 13(1), 101.
- St-Onge, M. P., Ross, R., Parsons, W. D., & Jones, P. J. (2003). Medium-chain triglycerides increase energy expenditure and decrease adiposity in overweight men. *Obesity*, 11(3), 395-402.
- Stunkard, A. J., and Wadden, T. A. (1993). *Obesity: Theory and Therapy*, 2nd Edn.
- Sukhija, P. S., & Palmquist, D. L. (1988). Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(6), 1202-1206.
- Takeuchi, H., Noguchi, O., Sekine, S., Kobayashi, A., & Aoyama, T. (2006). Lower weight gain and higher expression and blood levels of adiponectin in rats fed medium-chain TAG compared with long-chain TAG. *Lipids*, 41(2), 207-212.
- Turner, N., Hariharan, K., TidAng, J., Frangioudakis, G., Beale, S. M., Wright, L. E., ... & Cooney, G. J. (2009). Enhancement of muscle mitochondrial oxidative capacity and alterations in insulin action are lipid species dependent. *Diabetes*, 58(11), 2547-2554.
- Vadivel, V., & Pugalenth, M. (2010). Studies on the incorporation of velvet bean (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) as an alternative protein source in poultry feed and its effect on growth performance of broiler chickens. *Tropical animal health and production*, 42(7), 1367-1376.
- Wein, S., Wolfram, S., Schrezenmeir, J., Gašperiková, D., Klimeš, I., & Šeböková, E. (2009). Medium-chain fatty acids ameliorate insulin resistance caused by high-fat diets in rats. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 25(2), 185-194.
- Willett, W. C. (2012). Dietary fats and coronary heart disease. *Journal of internal medicine*, 272(1), 13-24.
- WHO. World Health Organization (WHO). (2017). Obesity and Overweight factsheet from the

- Xue, C., Liu, Y., Wang, J., Zheng, Z., Zhang, Y., Zhang, Y., ... & Arai, C. (2009).
- Yang, J. H., Chang, J. S., Chen, C. L., Yeh, C. L., & Chien, Y. W. (2016). Effects of different amounts and types of dietary fatty acids on the body weight, fat accumulation, and lipid metabolism in hamsters. *Nutrition*, 32(5), 601-608.
- Zhang, X., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, J., Xu, Q., Yu, X., ... & Xue, C. (2016). Medium-chain triglycerides promote macrophage reverse cholesterol transport and improve atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed a high-fat diet. *Nutrition Research*, 36(9), 964-973.
- Zhang, Y., Qing, X. U., Liu, Y. H., Zhang, X. S., Jin, W. A. N. G., Yu, X. M., ... & Xue, C. Y. (2015). Medium-chain triglyceride activated brown adipose tissue and induced reduction of fat mass in C57BL/6J mice fed high-fat diet. *Biomedical and Environmental Sciences*, 28(2), 97-104.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A gordura de leite de cabra mostrou potencial efeito na redução dos níveis de MDA e no aumento da GSH no cérebro, que foram associados à diminuição do comportamento de ansiedade nos animais sedentários. Mas quando o treinamento físico foi associado ao consumo destas dietas, os animais aumentaram os sintomas de ansiedade e aumento do MDA, indicando

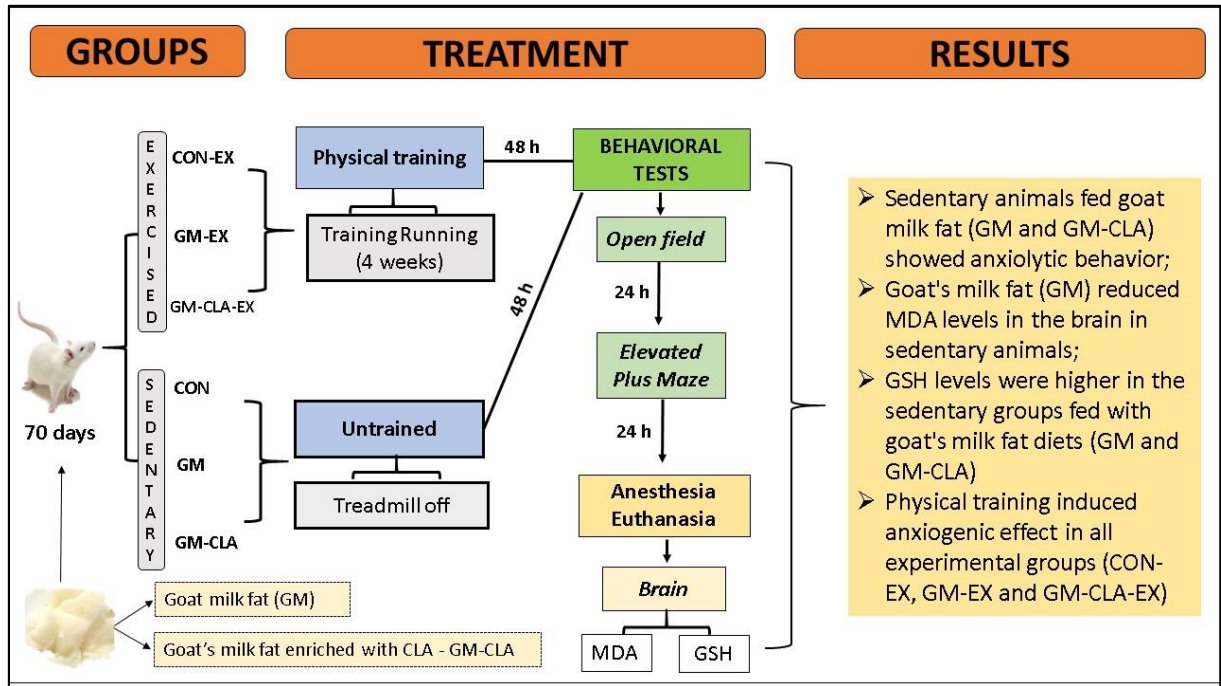
que o exercício tenha promovido aumento do estresse oxidativo no cérebro, repercutindo no comportamento.

As dietas com gordura de leite de cabra associado ao treinamento físico promoveram redução do ganho de peso corporal, repercutindo na redução do tecido adiposo corporal, controle da glicemia e redução de fatores de riscos para aterosclerose. Porém, o teor de CLA na dieta não influenciou estes resultados. Supõe-se que a composição de ácidos graxos saturados de cadeia média, presentes na gordura de leite de cabra tenha proporcionado efeito adicional na melhora dos parâmetros avaliados especificamente quando associado ao treinamento físico, exceto em relação ao controle da peroxidação lipídica no músculo. Contudo, à medida que promoveu aumento da peroxidação lipídica, a gordura de leite de cabra foi eficaz no aumento de glutathione (GSH) no músculo.

Sugere-se pesquisas futuras avaliando os efeitos da gordura de leite de cabra associado a diferentes modalidades e intensidade de treinamento físico sobre o estresse oxidativo cerebral e comportamento de ansiedade em ratos. Assim como, avaliar o efeito do consumo desta gordura combinado com exercício físico em seres humanos.

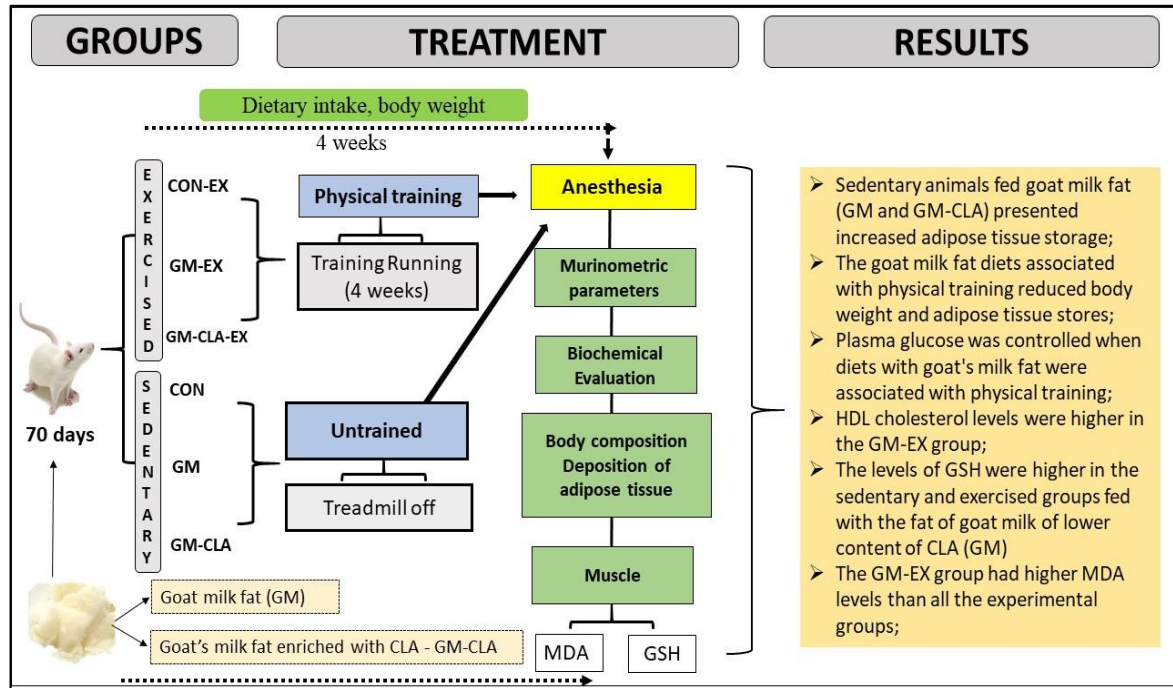
APÊNDICE A

GRAFIC ABSTRACT– ARTIGO I



APÊNDICE B

GRÁFIC ABSTRACT – ARTIGO II



ANEXOS

ANEXO A: Certidão de Aprovação do Comitê de Ética



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A: Sra. Prof^a. Dra. MAYARA QUEIROGA BARBOSA (Coordenador)

Protocolo CEP nº142-2014

CERTIDÃO

ASSUNTO: Solicitação de aprovação do projeto de pesquisa intitulado "Efeito do consumo de dietas elaboradas com gordura do leite de cabra enriquecida em ácido linoléico (CLA) em ratos exercitados e sedentários".

Certificamos a V.Sa. que seu projeto teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi Aprovado, em reunião Ordinária nº 03/2014, em 26 de Novembro de 2014, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Patos, 03 de Dezembro 2014.

Maria de Fátima de Araújo Lucena
Coordenadora do CEP

ANEXO B: Certificados de Tradução do Artigo I

ECB

English Consulting BrazilOctober 30th, 2017*To Whom It May Concern,*

This is to declare that I, Christopher James Quinn, a professional Native Canadian English teacher, editor, and translator for English Consulting Brazil, have reviewed and edited the article entitled **"Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of sedentary adults rats"** for structure, grammar, punctuation, spelling, word choice, and readability.

Isto é para declarar que eu, Christopher James Quinn, um professor, editor e tradutor profissional de inglês canadense nativo, revisou e editou o artigo intitulado "Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of sedentary adults rats" para estrutura, gramática, pontuação, ortografia, escolha de palavras e legibilidade.

If you have any questions, concerns, or doubts regarding the review/editing, please contact me at: englishconsultingbrazil@gmail.com.

Se você tiver dúvidas ou preocupações sobre a revisão/edição, entre em contato comigo no seguinte email: englishconsultingbrazil@gmail.com.

Thank you and kind regards,

Obrigado e melhores cumprimentos,

Christopher J. Quinn

Teacher, Editor, Portuguese to English Translator, English Consultant

ECB – English Consulting Brazil

Natal, RN, Brazil

ECB – English Consulting Brazil

CNPJ: 15.156.534/0001-89

Natal – RN

ANEXO B: Certificados de Tradução do Artigo II

ECB

English Consulting Brazil



January 17th, 2018

To Whom It May Concern,

This is to declare that I, Christopher James Quinn, a professional Native Canadian English teacher, editor, and translator for English Consulting Brazil, have reviewed and edited the article entitled **“Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when associated with exercise”** for structure, grammar, punctuation, spelling, word choice, and readability.

Isto é para declarar que eu, Christopher James Quinn, um professor, editor e tradutor profissional de inglês canadense nativo, revisou e editou o artigo intitulado “Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when associated with exercise” para estrutura, gramática, pontuação, ortografia, escolha de palavras e legibilidade.

If you have any questions, concerns, or doubts regarding the review/editing, please contact me at: englishconsultingbrazil@gmail.com.

Se você tiver dúvidas ou preocupações sobre a revisão/edição, entre em contato comigo no seguinte email: englishconsultingbrazil@gmail.com.

Thank you and kind regards, *Obrigado e melhores cumprimentos,*

Christopher J. Quinn
Teacher, Editor, Portuguese to English Translator, English Consultant
ECB – English Consulting Brazil
Natal, RN, Brazil

ECB – English Consulting Brazil
CNPJ: 15.156.534/0001-89
Natal - RN

ANEXO C: Comprovante de Submissão de Artigo I

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of
Functional Foods
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Goat's milk fat reduces body fat, plasma lipids and controls blood glucose in rats when associated with exercise

Article Type: Full Length Article

Keywords: Lipids; aerobic exercise; body fat; lipid oxidation; goat's milk fat.

Corresponding Author: Professor MAYARA QUEIROGA BARBOSA, Ms

Corresponding Author's Institution: FEDERAL UNIVERSITY OF CAMPINA GRANDE

First Author: MAYARA QUEIROGA BARBOSA, Ms

Order of Authors: MAYARA QUEIROGA BARBOSA, Ms; Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga; Marco Aurélio Delmondes Bomfim; Daline Fernanda de Sousa Araújo; Gerlane Coelho Bernardo Guerra; Iohrana Braz do Nascimento; Sebastião Anderson Dantas da Silva; Susana Alves; Rui Bessa; Juliana Kessia Barbosa Soares

Abstract: We investigated the effects of fat from goat milk with different levels of CLA associated with physical exercise in rats. The groups were: sedentary control (CON) and exercised (CON EX); sedentary (GM) and exercised goat's milk fat (GM-EX); fat goat's milk with increased CLA content (GM-CLA) and sedentary (GM-CLA-EX) exerted. Body weight was lower in the groups fed with goat's milk fat, because GM-EX presented lower weight gain. Mesenteric and retroperitoneal fat decreased in GM-EX and GM-CLA-EX. Carcass fat was lower in GM-EX and GM-CLA-EX, and body protein was higher in GM-EX. GM and GM-CLA increased glycemia and decreased GM-EX and GM-CLA-EX. HDL-c was lower in GM; However, with GM-EX training it was smaller than GM. MDA levels were elevated in all experimental groups. Muscle GSH was higher in CON-EX. However, GM and GM-EX presented higher GSH than all groups.

Suggested Reviewers: Yeonhwa Park PhD
Department of Food Science, , University of Massachusetts, 102 Holdsworth Way, Amherst,
ypark@foodsci.umass.edu

Raul Marcel González García Dr
Departamento de Biología,, Universidade Federal de Juiz de Fora
raul.garcia@ufjf.edu.br

Alexandre Guedes Torres Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos
Instituto de Química (IQ), Federal University of Rio de Janeiro.
torres@iq.ufrj.br

ANEXO C: Comprovante de Submissão de Artigo II

Food & Function

Food &
Function

Lipids from goat milk reduces anxiety behavior and oxidative stress in the brain of sedentary adults rats

Journal:	Food & Function
Manuscript ID:	FO-ART-11-2017-001764
Article Type:	Paper
Date Submitted by the Author:	14-Nov-2017
Complete List of Authors:	BARBOSA, MAYARA; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde Queiroga, Rita; Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências da Saúde, Nutrition Departament Bertoza, Camila ; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde Bomfim, Marco; EMBRAPA Caprinos e Ovinos Guerra, Gerlane; Federal University of Rio Grande do Norte, Araújo, Daline; Universidade Federal do Rio Grande do Norte Silva, Jaielison; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde Gomes, Louise; Universidade Federal de Campina, Centro de Ciências da Saúde Costa, Suedna; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação de Saúde Soares, Juliana ; Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde

SCHOLARONE™
Manuscripts