



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso

**Efeitos biológicos do tratamento oral com extrato de *Chenopodium
ambrosioides* (mastruz) associado com exercício de vibração de corpo
inteiro em modelo animal de diabetes mellitus tipo 1**

Rio de Janeiro

2023

André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso

**Efeitos biológicos do tratamento oral com extrato de *Chenopodium ambrosioides*
(mastruz) associado com exercício de vibração de corpo inteiro em modelo animal de
diabetes mellitus tipo 1**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental, da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Mario Bernardo Filho

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

C268 Cardoso, André Luiz Bandeira Dionizio.
Efeitos biológicos do tratamento oral com extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) associado com exercício de vibração de corpo inteiro em modelo animal de diabetes mellitus tipo 1 / André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso. - 2023.
103 f.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho
Coorientador: Prof. Dr. Mario Bernardo Filho

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Plantas medicinais - Teses. 2. *Chenopodium Ambrosioides* - Teses. 3. Diabetes Mellitus Tipo 1 - Teses. 4. Matéria médica vegetal - Teses. 5. Comportamento. 6. Aloxano. 7. Exercício Físico. 8. Biomarcadores Farmacológicos – Teses. I. Carvalho, Anderson Ribeiro. II. Bernardo Filho, Mario. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 633.88:616.379-008.64

Bibliotecária: Diana Amado B. dos Santos CRB7/6171

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso

**Efeitos biológicos do tratamento oral com extrato de *Chenopodium ambrosioides*
(mastruz) associado com exercício de vibração de corpo inteiro em modelo animal de
diabetes mellitus tipo 1**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-
Graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental, da Universidade do Estado do Rio de
Janeiro.

Aprovado em 29 de julho de 2023

Coorientador: Prof. Dr. Mario Bernardo Filho

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho (Orientador)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof^a. Dra. Danúbia da Cunha de Sá Caputo

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof^a. Dra. Thaís Porto Amadeu

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Gláucio Diré Feliciano

Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. André Luiz Nunes Freitas

Universidade Estácio de Sá

Rio de Janeiro

2023

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus antepassados, a minha mãe Antonia Dionizio por todo incentivo e apoio, e a todos aqueles que acreditam no meu potencial e sabem o quão difícil foi chegar até aqui.

AGRADECIMENTO

Ao meu orientador Prof. Anderson, agradeço a orientação, confiança e apoio em todos esses anos do doutorado. Aprendi muito nas nossas conversas, na montagem do nosso desenho de estudo e nas discussões dos resultados deste projeto.

Ao meu orientador Prof. Mario, que abriu as portas do LAVIMPI para eu dar início a minha trajetória na pós-graduação. Eu, aquele jovem que veio do Maranhão cheio de sonhos, que dava os primeiros passos na sua linha de pesquisa e hoje está aqui fechando esse ciclo. Lá se foram quase 8 anos! Você me ensinou coisas que foram muito além do uso da vibração mecânica gerada em plataforma. Obrigado pela orientação, confiança, apoio e pela amizade.

Aos amigos de bancada Carlos, Gustavo e Daniel que me ajudaram na realização dos experimentos, ainda mais no período da pandemia, sem vocês seria bem mais difícil concluir essa tarefa. Ao companheiro Carlos, obrigado pelo apoio na minha adaptação ao laboratório, por facilitar a comunicação com os setores do IBRAG e pela amizade.

Aos companheiros do laboratório LAVIMPI, incluindo aqueles que já saíram, em especial Eric, Eliane, Marcia, Aline, Rebeca, Danúbia, Luiza, Daniel, Cintia e Laisa, sem o carinho de vocês não teria sido fácil chegar aqui. Muito obrigado pela amizade, por compartilharem de tantos momentos comigo.

Aos meus grandes amigos Venceslau, Charles, Carlos (tilin) e Batouli, amizades de diamante, obrigado por estarem sempre próximos, por me incentivarem, por acreditarem no meu potencial, por todas as conversas e parceria. Tamo junto!

À família Trancoso, hoje representada pela minha amiga, Marta, por estar sempre presente, pelo carinho, confiança, apoio e por me fazer lembrar dos valores que levo de minha experiência no exterior, *muchas gracias!*

À minha família, pela base e em especial aqueles que acreditaram em mim e tiveram a compreensão do que é essa caminhada, dos sacrifícios e abdições que precisam ser tomados. Por me ajudarem a crescer, por me acompanharem nos bons e maus momentos, por me levantarem e pelo apoio incondicional.

A Deus, por tudo que sou, por tudo que tenho e por tudo que eu vier a ser.

Vocês podem lembrar de mim por ser bom ou não naquilo que faço. Eu só desejo que se lembrem de mim por ser uma boa pessoa.

André Cardoso

RESUMO

CARDOSO, André Luiz Bandeira Dionizio. **Efeitos biológicos do tratamento oral com extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) associado com exercício de vibração de corpo inteiro em modelo animal de diabetes mellitus tipo 1**. 2023. 103 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica caracterizada por afetar a produção e/ou ação da insulina no corpo, causando hiperglicemia. Das várias categorias estabelecidas de DM, um subtipo da doença cujo interesse científico vem crescendo gradualmente ao longo dos anos é o diabetes mellitus tipo 1 (DMT1). O DMT1 acarreta comprometimentos funcionais, fisiológicos e comportamentais. Estratégias variadas, incluindo as não farmacológicas, como exercícios, têm sido propostas para o manejo do DM. O exercício de vibração de corpo inteiro (EVCI), uma intervenção na qual os sujeitos são expostos à vibração mecânica (VM) por meio de uma plataforma vibratória tem sido sugerida para o manejo de doenças crônicas, como a DM. Além disso, a avaliação da associação do EVCI com substâncias naturais de propriedades antidiabéticas, como exemplo, *Chenopodium ambrosioides* (mastruz), uma espécie vegetal utilizada na medicina popular, é sugerida. O objetivo do presente estudo foi avaliar respostas biológicas decorrentes do efeito individual e combinado do EVCI e do tratamento oral com extrato de mastruz em ratos diabéticos, segundo os parâmetros funcionais, fisiológicos e comportamentais. A diabetes foi induzida por aloxana (150mg/kg). Foram utilizados ratos *Wistar* (n=85), machos, divididos aleatoriamente em cinco grupos: controle saudável (CON), controle diabético (DC), diabético tratado com VM (D-VBR), diabético tratado com mastruz a 15 mg/mL (D-CHE) e diabéticos submetidos ao tratamento combinado (CHE+VBR) por 5 semanas. Foram avaliados a ingestão de alimentos, atividade locomotora e exploratória, composição corporal (massa corporal e índice de massa corporal (IMC)), consistência das fezes, determinação bioquímica e neuroquímica e biodistribuição de radiofármaco ^{99m}Tc-pertecnetato de sódio e comportamento do tipo ansioso. Os resultados demonstraram em ratos diabéticos (DC) um aumento ($p<0,0001$) do consumo de alimentos, redução ($p<0,01$) de massa corporal e IMC, aumento ($p<0,0001$) da concentração sérica de glicose e porcentagem (%) de hemoglobina glicada (HbA1c) no sangue, aumento ($p<0,01$) de lipídeos (triglicerídeos e colesterol), lipoproteína (HDL), minerais (cálcio e magnésio), compostos nitrogenados (creatinina e ureia) e ($p<0,01$) enzimas séricas (ALP, ALT e lipase), aumento ($p<0,05$) de serotonina, colina e ácido diidroxifenilacético (DOPAC) no hipocampo, também foi observado aumento ($p<0,01$) da captação do radiofármaco ^{99m}Tc-pertecnetato de sódio no intestino e pâncreas em relação ao CON. Não foram observados diferenças na consistência das fezes, na atividade locomotora e exploratória no grupo DC. No diabetes induzido, o tratamento individual com mastruz regulou o consumo de ração e impediu: a perda de massa corporal e IMC, o aumento da %HbA1c e níveis séricos de triglicerídeos; aumentou o comportamento exploratório dos animais e reduziu a % de radioatividade no pâncreas e intestino. O tratamento com EVCI impediu a perda de massa corporal, melhorou a atividade locomotora e exploratória dos animais, além do comportamento do tipo ansioso e aumentou a concentração de DOPAC no hipocampo. Por sua vez, o tratamento combinado impediu a perda de massa corporal e regulou o IMC, além dos níveis de HDL no sangue. Em conclusão, as respostas biológicas do tratamento individual com mastruz ou EVCI sugerem potencial terapêutico no manejo do DM induzido, podendo regular efeitos adversos causados pela ação crônica da aloxana em ratos *Wistar*. Contudo, o tratamento combinado se mostrou pouco sensível no manejo do DM induzido.

Palavras-chave: *Chenopodium ambrosioides*. Exercício físico. Neurotransmissor. Comportamento. Aloxano.

ABSTRACT

CARDOSO, André Luiz Bandeira Dionizio. **Biological effects of the oral treatment with *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) extract associated with whole-body vibration exercise in a type 1 diabetes mellitus animal model.** 2023. 103 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease characterized by affecting the production and/or action of insulin in the body, causing hyperglycemia. From various established categories of DM, a subtype of the disease whose scientific interest has been gradually growing over the years is type 1 diabetes mellitus (T1DM). T1DM causes functional, physiological and behavioral impairments. Various strategies, including non-pharmacological, such as exercises, have been proposed for the management of DM. Whole-body vibration (WBV) exercise, an intervention in which subjects are exposed to mechanical vibration (VM) through a vibrating platform, has been suggested for the management of chronic diseases such as DM. In addition, the evaluation of the association of WBV with natural substances with antidiabetic properties, such as *Chenopodium ambrosioides* (mastruz), a plant species used in folk medicine, is suggested. The aim of the current study was to evaluate biological responses resulting from the individual and combined effect of WBV and oral treatment with mastruz extract in diabetic rats, according to functional, physiological and behavioral parameters. Diabetes was induced by alloxan (150mg/kg). Male Wistar rats (n=85) were used, randomly divided into five groups: healthy control (CON), diabetic control (DC), diabetic treated with MV (D-VBR), diabetic treated with mastruz at 15 mg/mL (D-CHE) and diabetics submitted to combined treatment (CHE+VBR) for 5 weeks. Food intake, locomotor and exploratory activity, body composition (body mass and body mass index (BMI)), stool consistency, biochemical and neurochemical determination and biodistribution of the radiopharmaceutical ^{99m}Tc -sodium pertechnetate and anxiety-like behavior were evaluated. The results demonstrated in diabetic rats (DC) an increase ($p<0.0001$) in food consumption, reduction ($p<0.01$) in body mass and BMI, increase ($p<0.0001$) in serum glucose concentration and percentage (%) of glycated hemoglobin (HbA1c) in the blood, increase ($p<0.01$) of lipids (triglycerides and cholesterol), lipoprotein (HDL), minerals (calcium and magnesium), nitrogenous compounds (creatinine and urea) and ($p<0.01$) serum enzymes (ALP, ALT and lipase), increase ($p<0.05$) serotonin, choline and dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in hippocampus, also an increase ($p<0.01$) in the uptake of the radiopharmaceutical ^{99m}Tc -sodium pertechnetate was observed in the intestine and pancreas. No differences were observed in stool consistency, locomotor and exploratory activity in the DC group. In induced diabetes, the individual treatment with mastruz regulated feed intake, body mass loss and BMI, %HbA1c, serum triglyceride levels, and %radioactivity in the pancreas and intestine, on the other hand, increased exploratory behavior. While WBV intervention regulated body mass loss and BMI, concentration of DOPAC in the hippocampus improved locomotor and exploratory activity, in addition to anxiety-like behavior. In turn, the combined treatment regulated the loss of body mass and BMI, in addition to HDL levels in the blood. In conclusion, the biological responses of the individual treatment with mastruz or EVCI suggest therapeutic potential in the management of induced DM, being able to regulate adverse effects caused by the chronic action of alloxan in Wistar rats. However, the combined treatment proved to be insensitive in the management of induced DM.

Keywords: *Chenopodium ambrosioides*. Physical exercise. Neurotransmitter. Behavior. Alloxan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Exercício de vibração de corpo inteiro	18
Figura 2 –	<i>Chenopodium ambrosioides</i> Linn	20
Figura 3 –	Cronograma experimental	24
Figura 4 –	Procedimento para realização do exercício de vibração de corpo inteiro.	28
Figura 5 –	Escala de consistência das fezes	29
Figura 6 –	Teste do labirinto em cruz elevado	30
Figura 7 –	Teste do campo aberto	31
Figura 8 –	Consumo de ração em animais sadios e diabéticos durante 5 semanas....	37
Figura 9 –	Massa corporal de animais sadios e diabéticos durante 5 semanas.....	38
Figura 10 –	Enzimas determinadas em animais sadios e diabéticos	41
Figura 11 –	Consumo de ração em animais sadios e diabéticos durante 5 semanas ..	42
Figura 12 –	Massa corporal de animais sadios e diabéticos durante 5 semanas	43
Figura 13 –	Índice de massa corporal de ratos sadios e diabéticos	44
Figura 14 –	Enzimas determinadas em animais sadios e diabéticos	46
Figura 15 –	Efeitos do tratamento no teste do labirinto em cruz elevado	48
Figura 16 –	Efeitos do tratamento no teste do campo aberto	49
Figura 17 –	Concentrações de neurotransmissores no córtex	50
Figura 18 –	Concentrações de metabólitos no córtex	51
Figura 19 –	Razão DOPAC/dopamina e 5-HIAA/5-HT no córtex	51
Figura 20 –	Concentrações de neurotransmissores no hipocampo	52
Figura 21 –	Concentrações de metabólitos no hipocampo	53
Figura 22 –	Razão DOPAC/dopamina e 5-HIAA/5-HT no hipocampo	53
Figura 23 –	Consumo de ração em animais sadios e diabéticos durante 5 semanas..	55
Figura 24 –	Massa corporal de animais sadios e diabéticos durante 5 semanas	56
Figura 25 –	Índice de massa corporal de ratos sadios e diabéticos	56
Figura 26 –	Enzimas determinadas em animais sadios e diabéticos	59
Figura 27 –	Efeitos do tratamento no teste do labirinto em cruz elevado	61
Figura 28 –	Efeitos do tratamento no teste do campo aberto	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Porcentagem (%ATI/g) de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ em diferentes órgãos dos animais submetidos ao tratamento oral	39
Tabela 2 –	Concentração sanguínea de biomarcadores com 5 semanas em animais submetidos aos diferentes tratamentos	40
Tabela 3 –	Concentração sanguínea de biomarcadores em animais sadios e diabéticos.....	45
Tabela 4 –	Análise da consistência das fezes de ratos sadios e diabéticos	54
Tabela 5 –	Concentração sanguínea de biomarcadores com 5 semanas em animais submetidos aos diferentes tratamentos	58
Tabela 6 –	Análise da consistência das fezes de ratos sadios e diabéticos	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ANOVA	Análise de Variância
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
ALX	Aloxana
AST	Aspartato Aminotransferase
BA	Braço Aberto
BF	Braço Fechado
CA	Campo Aberto
<i>C. ambrosioides</i>	<i>Chenopodium Ambrosioides</i>
CEUA	Comitê de Ética Para o Uso De Animais Experimentais
CON	Grupo Controle
CHE	Grupo Tratado Com Mastruz (<i>C. Ambrosioides</i>)
CHE+VBR	Grupo Diabético Submetido Ao Tratamento Combinado
CK	Creatina Quinase
DA	Dopamina
DC	Grupo Diabético Controle
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DOPAC	Ácido Diidroxifenilacético
D-CHE	Grupo Diabético Tratado Com Mastruz (<i>C. Ambrosioides</i>)
D-VBR	Grupo Diabético Submetido À Vibração Mecânica Gerada Em Plataforma
E.P.M	Erro Padrão Da Média
EVCi	Exercício De Vibração De Corpo Inteiro
GABA	Acido Gama-Aminobutírico
HDL	Lipoproteína De Alta Densidade
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes
IMC	Índice de Massa Corporal

LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
PV	Plataforma Vibratória
RENISUS	Relação Nacional de Plantas de Interesse do Sistema Nacional de Saúde
STZ	Streptozotocina
UERJ	Universidade do Estado Do Rio De Janeiro
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
VM	Vibração Mecânica
5-HT	Serotonina
%ATI/g	Porcentagem da Radioatividade Injetada Por Grama
<i>p</i>	<i>P</i> -Valor
Na ^{99m} TcO ₄	Pertecnetato de Sódio
μKat	Microkatal

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	15
1	OBJETIVOS.....	22
1.1	Objetivo geral.....	22
1.2	Objetivos específicos.....	22
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
2.1	Etapas experimentais.....	23
2.2	Procedimentos experimentais.....	24
2.2.1	<u>Animais</u>	24
2.2.2	<u>Indução a diabetes</u>	24
2.2.3	<u>Análise do consumo de ração e da massa corporal</u>	25
2.2.4	<u>Análise bioquímica de biomarcadores sanguíneos</u>	25
2.3	Linha experimental da etapa I	26
2.3.1	<u>Material vegetal</u>	26
2.3.2	<u>Desenho experimental</u>	26
2.3.3	<u>Biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)</u>	27
2.4	Linha experimental da etapa II	27
2.4.1	<u>Exercício de vibração de corpo inteiro</u>	27
2.4.2	<u>Desenho experimental</u>	28
2.4.3	<u>Análise da consistência das fezes</u>	28
2.4.4	<u>Testes comportamentais</u>	29
2.4.4.1	Teste de labirinto em cruz elevado	30
2.4.4.2	Testes de campo aberto	31
2.4.5	<u>Análise neuroquímica</u>	32
2.4.5.1	Reagentes	32
2.4.5.2	Análise cromatográfica	32
2.5	Linha experimental da etapa III	33
2.5.1	<u>Material vegetal</u>	33
2.5.2	<u>Exercício de vibração de corpo inteiro</u>	33
2.5.3	<u>Desenho experimental</u>	33

2.5.4	<u>Análise da consistência das fezes</u>	35
2.5.5	<u>Testes comportamentais</u>	35
2.5.5.1	Teste de labirinto em cruz elevado	35
2.5.5.2	Testes de campo aberto	35
2.6	Elaboração de revisão sistemática	35
2.7	Análise quantitativa	36
3	RESULTADOS	37
3.1	Etapa I	37
3.1.1	<u>Consumo de ração</u>	37
3.1.2	<u>Massa corporal</u>	38
3.1.3	<u>Biodistribuição do radiofármaco</u>	39
3.1.4	<u>Análise bioquímica</u>	40
3.2	Etapa II	42
3.2.1	<u>Consumo de ração</u>	42
3.2.2	<u>Massa corporal e IMC</u>	43
3.2.3	<u>Análise bioquímica</u>	43
3.2.4	<u>Testes de comportamento</u>	47
3.2.4.1	Testes do labirinto em cruz elevado.....	47
3.2.4.2	Testes do campo aberto	48
3.2.5	<u>Análise neuroquímica</u>	49
3.2.5.1	Córtex Pré-Frontal	50
3.2.5.2	Hipocampo	52
3.2.6	<u>Consistência das fezes</u>	53
3.3	Etapa III	53
3.3.1	<u>Consumo de ração</u>	53
3.3.2	<u>Massa corporal e IMC</u>	54
3.3.3	<u>Análise bioquímica</u>	57
3.3.4	<u>Testes de comportamento</u>	60
3.3.4.1	Testes do labirinto em cruz elevado.....	60
3.3.4.2	Testes do campo aberto	61
3.3.5	<u>Consistência das fezes</u>	62
3.4	Revisão sistemática	63
4	DISCUSSÃO	64

4.1	Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, na função alimentar e consistência das fezes em ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)	64
4.2	Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, em parâmetros murinométricos de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)	66
4.3	Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, nas alterações comportamentais de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas II e III)	67
4.4	Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, nas alterações bioquímicas de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)...	69
4.5	Efeito do tratamento individual por EVCI, sobre as alterações neuroquímicas de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapa II)	70
4.6	Efeito do tratamento individual por mastruz, sobre a alteração na biodistribuição de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ em ratos sadios e ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapa I).....	71
4.7	Respostas biológicas do EVCI no comportamento e funcionamento cerebral em estudos pré-clínicos (revisão sistemática publicada).....	72
	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	ANEXO A - Formato da revisão sistemática publicada.....	91
	ANEXO B - Comprovação de submissão do 2º artigo	103

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica caracterizada pela alteração na produção e/ou ação da insulina, causando hiperglicemia persistente (níveis elevados de glicose no sangue) (ADA et al., 2005; WHO et al., 2019, ADA et al., 2021). Das várias categorias estabelecidas de DM, existem dois subtipos principais: o diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) e diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Deepthi et al, 2017; WHO et al., 2019; Egan & Dinneen, 2019). O DMT1 é conhecido como uma condição autoimune órgão-específica que comumente ocorre em crianças ou adolescentes, caracterizada pela destruição seletiva das células beta das ilhotas pancreáticas que leva a perda da produção de insulina e a hiperglicemia (Ilonen et al., 2019; Eizirik et al., 2020). O DMT2 geralmente ocorre em adultos e idosos que apresentam um quadro de hiperglicemia prolongada, decorrente da resistência à insulina e disfunção na sua secreção resultante do estilo de vida e escolhas alimentares inadequadas (WHO et al., 2019; Eizirik et al., 2020).

A diabetes tornou-se um problema sério de saúde pública no mundo, sua incidência está aumentando e com base em sua prevalência, estima-se que a doença atinja mais de 578 milhões de pessoas (10,2%) em 2030, e 700 milhões (10,9%) em 2045, trazendo ônus para a sociedade e sistema de saúde (Sun et al., 2022). No Brasil, a incidência é de 16,8 milhões de pessoas com diabetes (adultos de 20 a 79 anos) (Magliano et al., 2021). O DMT1 vem crescendo gradualmente ao longo dos anos (Katsarou et al., 2017; Magliano et al., 2021; Sun et al., 2022), estima-se que no mundo 8,75 milhões de pessoas vivem com a doença, sendo 1,53 milhão de crianças e adolescentes com menos de 20 anos (Sun et al., 2022).

Clinicamente, o início do DMT1 acarreta um declínio progressivo na função das células beta, que residem no pâncreas, especificamente na região das ilhotas de Langerhans, e o risco pode ser previsto com base em marcadores bioquímicos (Yi et al., 2018; Thomas et al., 2019; Brenu et al., 2023), alterações funcionais e fisiológicas como a perda de massa corporal (Markowitz et al., 2015; Mottalib et al., 2017), polidipsia (Stipancic et al., 2011), polifagia (Kahanovic et al., 2017), poliúria (Stipancic et al., 2011), fadiga (Kahanovic et al., 2017), complicações gastrointestinais (Krishnan et al., 2013), distúrbios lipídicos (Kahanovic et al., 2017), alterações circulatórias sistêmica, hematológicas e imunológicas, que lesam vários sistemas e órgãos a longo prazo (Li et al., 2014; Kahanovic et al., 2017, Schofield et al., 2019), além de autoanticorpos circulantes para antígenos de células beta (Fousteri et al., 2017; Regnell & Lernmark, 2017). Ademais, complicações psicológicas estão associadas ao DM,

como ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo, fobias e ataques de pânico (Rechenberg et al., 2017; Alvarado-Martel et al., 2019; ADA, 2021).

Comprometimentos da saúde mental ocorrem de 33 a 42% dos jovens com DMT1 (Northam et al., 2005; Rechenberg et al., 2017), quase três vezes mais do que em jovens que não apresentam a doença. Os sintomas de ansiedade são prevalentes em jovens com DMT1, com 13 a 21,3% deles ocorrendo em algum momento durante a infância ou adolescência (Maahs et al., 2010; Rechenberg et al., 2017), e em média 18,4% dos jovens com DMT1 são diagnosticados com transtorno de ansiedade (Chiang et al., 2018). Além disso, os sintomas depressivos ocorrem em torno de 11,3 a 27,5% dos jovens com DMT1 (Bernstein et al., 2013; McGill et al., 2018). Ambos os fatores estão associados a pior qualidade de vida, autogerenciamento e controle glicêmico (Bernstein et al., 2013; Alvarado-Martel et al., 2019).

Evidências indicam um declínio na função cognitiva em pacientes com DM (Li et al., 2017; Shalimova et al., 2019). Atualmente, a correlação entre diabetes e disfunção cognitiva é observada em indivíduos com diabetes que apresentam menor função cognitiva na velocidade de processamento de informações, tomada de decisão e memória, quando comparados a indivíduos saudáveis, portanto, tendo maior risco de demência (Marden et al., 2017; Lacy et al., 2018). Por sua vez, sugere-se que o diabetes pode servir como um fator de risco de comprometimento cognitivo, que prejudica a memória e a linguagem em indivíduos, diminui sua qualidade de vida e pode levar a um distúrbio de comportamento grave (Wang et al., 2020).

Com base nos mecanismos subjacentes (Katsarou et al., 2017; Foustieri et al., 2017; Regnell & Lernmark, 2017), os indivíduos que desenvolvem o estágio de múltiplos autoanticorpos de células beta progridem para diabetes clínico, portanto, quanto mais cedo o processo for iniciado, mais rápida será a progressão para DMT1 (Regnell & Lernmark, 2017). Assim, a introdução precoce do tratamento contra a doença é favorável para controlar seus efeitos.

O tratamento com insulina (insulinoterapia) é o padrão-ouro no manejo do DMT1, e a insulinoterapia com regime de insulina basal-bolus, controlada e adaptada pelo paciente é a mais comum (Lechleitner & Hoppichler, 2011). Além disso, evidências recentes relataram o papel preventivo da administração oral de insulina nos primeiros meses de crianças com risco genético elevado para DMT1 (Ziegler et al., 2019; Assfalg et al., 2021). De fato, o tratamento do DMT1 é complexo e envolve automonitoramento da glicemia, administração de insulina, manejo dietético e atividade física regular para manter os níveis ideais de glicemia (Diabetes Prevention Trial–Type 1 Diabetes Study Group, 2002; Forouhi & Wareham, 2014; Knox et

al., 2019). No entanto, a insulinoterapia tem algumas desvantagens, incluindo resistência aos medicamentos (redução da eficiência), efeitos colaterais e até toxicidade (Grunberger, 2013; Rys et al., 2018).

Em paralelo, estratégias não farmacológicas (p. ex. mudanças no estilo de vida) têm sido propostas para o manejo do DM (Frandsen et al., 2018). O exercício físico regular (treinamento) também tem se mostrado uma estratégia importante no tratamento do DM, contribuindo para o controle glicêmico, melhora da sensibilidade à insulina, balanço energético, melhora do metabolismo e normalização da pressão arterial (Gulve, 2008; Seeger et al., 2011; Kirwan et al., 2017). No entanto, a falta ou baixo nível de regime de atividade física devido ao sedentarismo ou complicações desencadeadas pelo diabetes e/ou terapia medicamentosa, são considerados fatores limitantes para diferentes populações, incluindo os indivíduos com DMT1 (Celik et al., 2015; Liu et al., 2017).

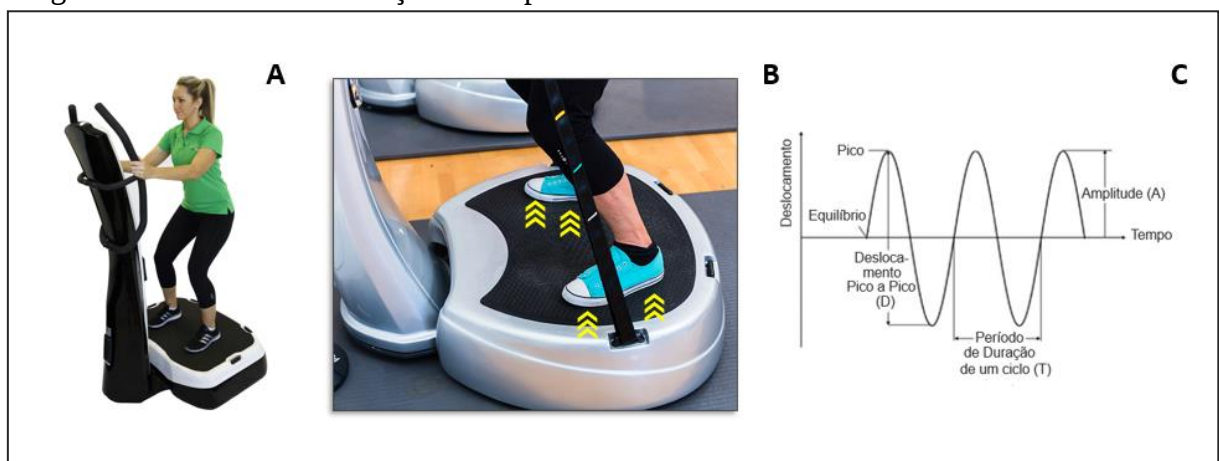
Exercício de vibração de corpo inteiro

Assim, o exercício de vibração de corpo inteiro (EVCI) é proposto como uma alternativa de exercício para aqueles indivíduos que não conseguem realizar exercícios físicos regularmente, como por exemplo, devido a complicações do DM (Bonanni et al., 2022). O EVCI é uma intervenção em que os sujeitos são expostos a vibração mecânica (VM) gerada por uma plataforma vibratória (PV) (Rittweger, 2010; Bonanni et al., 2022). A VM é um estímulo físico caracterizado por um movimento oscilatório, sinusoidal e determinista em torno de um ponto de equilíbrio (Rauch, 2010; Van Heuvelen et al., 2021). Durante o EVCI (Figura 1), VM são transmitidas por todo o corpo quando o indivíduo está com os pés em contato com a base de uma PV, em uma postura estática (p. ex. em pé, sentado sobre a base, sentado e somente com o pé sobre a base) ou dinâmica (Bemben et al., 2018; Van Heuvelen et al., 2021). Portanto, trata-se de uma forma de intervenção sistêmica e tem sido utilizada em diferentes populações (Bemben et al., 2018; Marin-Puyalto et al., 2020; Arenales Arauz et al., 2023), e é gerado no indivíduo na terapia vibratória sistêmica (Sá-caputo et al., 2022). Os protocolos de EVCI são definidos por parâmetros biomecânicos como frequência (f), amplitude (A) ou deslocamento pico a pico (D) e pico de aceleração (a_{Peak}) (Rauch, 2010), além de parâmetros como o tempo de exposição, número de séries, tempo de repouso entre as séries, e a duração do protocolo (p. ex. agudo ou crônico) (Rauch, 2010; Van Heuvelen et al., 2021).

Com o tempo, o EVCI tem se tornado uma intervenção efetiva, segura, de fácil acesso, boa aderência por parte do paciente e adquiriu aceitação para uma série de condições clínicas, incluindo lesões esportivas (Arenalez Arauz et al., 2022), incapacidade física (Arenalez Arauz et al., 2023), esclerose múltipla (Abbasi et al., 2019), osteoporose (Jepsen et al., 2019), doença do disco lombar e dor lombar (Boucher et al., 2013; Kaeding et al., 2017), paralisia cerebral (Han et al., 2019), doenças metabólicas (Manimmanakorn et al., 2017; Reis-Silva et al., 2022; Dos Santos et al., 2023) e demência (Ikuo Odano et al., 2022). Além disto, dependendo do protocolo (Van Heuvelen et al., 2021), o EVCI pode melhorar a resistência, equilíbrio, potência muscular, força muscular, mobilidade funcional, densidade mineral óssea, fluxo sanguíneo e frequência cardíaca (Herrero et al., 2011; Ritzmann et al., 2014; Bembien et al., 2017; Lai et al., 2021; Chang et al., 2021). Ademais, também foram relatados efeitos benéficos do EVCI no sistema nervoso central (SNC), incluindo o aumento da plasticidade sináptica do hipocampo, desempenho neuromuscular (Cariati et al., 2021; Oroszi et al., 2022), atenuação de danos cerebrais (Chen et al., 2022), melhora do humor (Choi & Mizukami, 2020), aprendizado e desempenho da memória (Oroszi et al., 2022).

Para o DM, semelhante ao exercício físico, é sugerido que o EVCI pode ser útil no manejo da diabetes, melhorando a atividade das células beta nas ilhotas pancreáticas e resistência à insulina, ou maior capacidade de resposta da captação de glicose muscular (Yu et al., 2019; Jawed et al., 2020; An et al., 2022). O EVCI pode amenizar sintomas do DM, como poliúria, polidipsia, osmolaridade da água e melhorar o metabolismo da glicose no fígado (Betik et al., 2021; Kitamoto et al., 2021; An et al., 2022). No entanto, no DMT1, o conhecimento sobre os mecanismos subjacentes à ação da VM ainda é limitado, mesmo em estudos clínicos e pré-clínicos.

Figura 1 - Exercício de vibração de corpo inteiro



Legenda: Posição do indivíduo na plataforma vibratória (A). Os pés em contato com a base da plataforma vibratória (B). Gráfico representativo de deslocamento contra o tempo em vibração sinusoidal (C).

Fonte: Google imagens, Rauch et al., 2010.

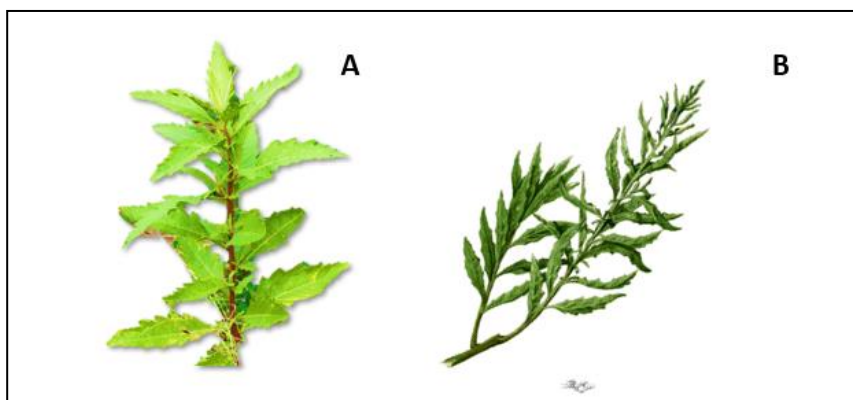
Extrato de plantas medicinais

Por outro lado, a busca por terapias complementares a insulino-terapia tem estimulado estudos de validação sobre os efeitos de produtos naturais (Kooti et al., 2016; Jugran et al., 2021). Muitos metabólitos de plantas demonstraram possuir vários efeitos biológicos, úteis no tratamento complementar de doenças metabólicas (Kooti et al., 2016; Furman et al., 2020), como as plantas medicinais que demonstraram propriedades antidiabéticas (Ezeja et al., 2015; Salehi et al., 2019; Willcox et al., 2021; Ahmad et al., 2021). A maioria dos metabólitos secundários, incluindo carotenoides, flavonoides, terpenoides, alcaloides e glicosídeos estão presentes em muitos extratos vegetais, sendo alguns desses metabólitos relatados com efeitos benéficos no tratamento do DM (Cysne et al., 2016; Wang et al., 2017; Emordi et al., 2018).

No Brasil, a Relação Nacional de Plantas de Interesse do Sistema Nacional de Saúde (RENISUS) apresenta uma lista com 71 espécies de plantas utilizadas na medicina popular. Destaca, a necessidade de aumentar a compreensão dos mecanismos envolvendo as propriedades terapêuticas das mesmas e a importância do uso como fitoterápico (De Souza et al., 2015).

O *Chenopodium ambrosioides* L. (*C. ambrosioides*) é uma espécie vegetal que faz parte dessa lista (Figura 2). Pertencente à família Amaranthaceae, *C. ambrosioides* é um arbusto herbáceo, anual ou perene, com forte cheiro aromático, amplamente distribuído na África Ocidental, América Central e do Sul. No Brasil, é popularmente conhecida como ‘Mastruz’ ou ‘Erva-de-Santa-Maria’ (Song et al., 2011; Da Silva et al., 2014; Kasali et al., 2021). Segundo a Organização Mundial de Saúde, *C. ambrosioides* está entre as plantas mais utilizadas na medicina popular no mundo (Da Silva et al., 2014; Sá et al., 2016), em particular, as folhas, raízes e sementes as partes mais utilizadas (Sá et al., 2016; Cardoso et al., 2017; Kasali et al., 2021). De fácil cultivo, a planta cresce em solos leves (arenosos), médios, pesados, ácidos, neutros e alcalinos (pH variando de 5,2 a 8,3). É uma espécie cultivada e cosmopolita (Kasali et al., 2021).

Figura 2 - *Chenopodium ambrosioides* Linn



Legenda: Registro fotográfico do Mastruz (A). Ilustração original publicada por Blanco F.M, 2019 (B).

Fonte: Disponível em <https://www.gbif.org/occurrence/1424494213>; Hardpress Publishing, 2019.

Estudos sobre a composição química de *C. ambrosioides* (sinônimo: *Dysphania ambrosioides*) mostraram que esta planta possui muitos compostos bioativos, sendo terpenoides o principal composto (Patrício et al., 2008; Kasali et al., 2021), e o ascaridol o mais abundante (Dembitsky et al., 2008; Kasali et al., 2021), além de flavonoides, bem conhecidos por suas múltiplas funções biológicas, incluindo potencial antidiabético (Brahmachari et al., 2008; Brahmachari et al., 2008). Além disso, alguns efeitos de *C. ambrosioides* tem sido confirmado, tais como anti-inflamatório, antioxidante, cicatrizante, anti-helmíntico, antitumoral e antimicrobiano (Nascimento et al., 2016; Kumar et al., 2007; Patricio et al., 2008; Trivellatograssi et al., 2013; Da Silva et al., 2014; Cysne et al., 2016). Estudos pré-clínicos demonstraram um efeito hipoglicemiante do extrato metanólico de *C. ambrosioides* em camundongos diabéticos (Song et al., 2011) e sua capacidade de reduzir a glicose em ratos normoglicêmicos (Kasali et al., 2022). No entanto, nenhum estudo experimental relatou os efeitos crônicos de *C. ambrosioides* em modelos animais induzidos por meio de drogas diabetogênicas.

Modelo experimental de DMT1

Considerando a complexidade e os avanços dos casos de DM em todo o mundo, as pesquisas experimentais envolvendo modelos animais vêm se intensificando e somando esforços à pesquisa clínica, a fim de contribuir para soluções no tratamento/prevenção do DM (Wang et al., 2022). Consequentemente, agentes diabetogênicos, como a aloxana (ALX), são usados para imitar os efeitos do DM em estudos com animais. A ALX é um dos agentes comumente administrados e tem sido descrito por mimetizar efeitos característicos do DMT1 em animais (Dunn & McLetchie, 1943; Lezen, 2008). O diabetes induzido por ALX é

conhecido por uma forma de inibição da secreção de insulina induzida por glicose que ocorre como resultado da injeção desse fármaco (Gomori & Goldner 1945; Kume et al., 1994), a ALX promove a morte das células beta pancreáticas e causa alterações na homeostase glicêmica nos animais, como redução da insulina circulante, redução do glicogênio hepático e hiperglicemia (Lezen, 2008; Lucchesi et al., 2015). O uso deste análogo de glicose citotóxica já é bem estabelecido em uma variedade de modelos animais, como coelhos, camundongos, ratos, macacos e cães (Goldner & Gomori 1944; Cruz et al., 1961; Gibbs et al., 1966; Al-Azzawie et al., 2006, Lucchesi et al., 2015).

O diabetes induzido tem-se mostrado um *background* experimental relevante para a investigação de respostas biológicas de substâncias naturais (p.ex. extrato vegetal) a curto e longo prazo, considerando seu potencial terapêutico e seu valor translacional (Ezeja et al., 2015; Macdonad Ighodaro et al., 2017; Elangovan et al., 2019; Cardoso et al., 2019; Kasali et al., 2022). Além disso, intervenções como o EVCI, que têm sido aplicada a (pequenos) animais têm alta relevância translacional (Cardoso et al., 2017; Cariati et al., 2021; Oroszi et al., 2022) para tentar entender as respostas biológicas ao exercício (agudo e cumulativo). Assim como, avaliar efeitos que possam ser observados em relação ao EVCI, considerando sua transferibilidade para investigações em humanos (Cardoso et al., 2017; Yu et al., 2019; Cariati et al., 2021; An et al., 2022; Oroszi et al., 2022b), são altamente desejáveis no estudo do DMT1.

Apesar do grande número de estudos dos efeitos biológicos de produtos naturais ou do exercício físico no diabetes induzido por agentes diabetogênicos, existem poucos estudos em modelos animais que avaliam os efeitos de intervenção da associação de extrato vegetal com o EVCI (Cardoso et al., 2019). Além disso, existem poucos estudos sobre os mecanismos das respostas fisiológicas e comportamentais que o tratamento combinado desses agentes pode promover no DMT1. Considerando que a ação citotóxica do ALX é um fator de risco para o animal e que essa condição pode causar complicações fisiológicas e até mesmo psicológicas como a ansiedade (Caliskan et al., 2019; Gao et al., 2019), esse modelo de estudo envolvendo a associação de agentes possui relevância no entendimento das bases biológicas de intervenções crônicas. Assim, no presente estudo é testada a hipótese de que o tratamento combinado envolvendo o mastruz e o EVCI, exerça um efeito regulador, preservando a função fisiológica e cognitiva em ratos com DMT1.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Analisar as respostas biológicas decorrentes do efeito individual e combinado da intervenção por exercício de vibração de corpo inteiro e tratamento oral com extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) em ratos diabéticos, segundo os parâmetros funcionais, fisiológicos e comportamentais.

1.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar, por meio de protocolo crônico, se há diferenças entre o tratamento feito de forma individual (com mastruz ou EVCI) ou combinado em ratos saudáveis ou diabéticos (indução por ALX) com base nos seguintes parâmetros:
 - No consumo de ração;
 - Na massa corporal e índice de massa corporal;
 - Na consistência das fezes;
 - Na função cognitiva
 - Na função locomotora;
 - Na biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$);
 - Nas concentrações de biomarcadores relacionados com alterações metabólicas;
 - Na análise neuroquímica de tecidos do córtex pré-frontal e hipocampo.
- b) Investigar, por revisão sistemática da literatura, respostas biológicas do EVCI no comportamento e funcionamento cerebral em estudos pré-clínicos.

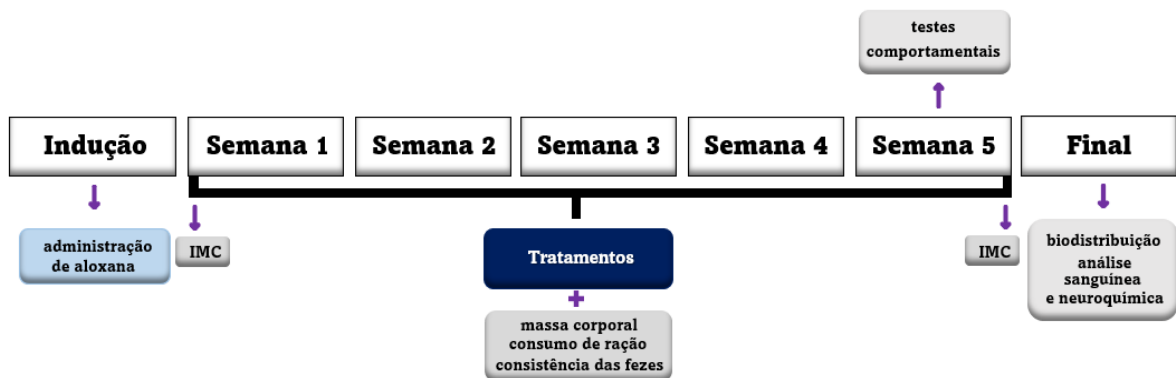
2 MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas experimentais deste projeto foram executadas no Laboratório de Vibrações Mecânicas e Práticas Integrativas (LAVIMPI), no Departamento de Biofísica e Biometria, situados no Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para Cuidado e Uso de Animais Experimentais do IBRAG/UERJ (protocolo nº CEUA/006/2019), em conformidade com a Lei nº 11.794/2008, e de acordo com a Declaração de Helsinkí e com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório adotado e promulgado pelos Institutos Nacionais de Saúde (*National Health Institute*) dos Estados Unidos. Além disso, uma revisão sistemática foi produzida e teve colaboração de pesquisadores do *Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences*, da Universidade de Groningen, Holanda.

2.1 Etapas experimentais

A etapa I foi realizada em agosto de 2019 e avaliou o efeito do tratamento com extrato aquoso de mastruz (*C. ambrosioides*) em ratos saudáveis e diabéticos. A etapa II foi realizada em abril de 2021 e avaliou o efeito dos EVCI em ratos diabéticos expostos a VM gerada em PV (*Globus-Vibe 800, Itália*). A etapa III foi realizada em agosto de 2021 e avaliou o efeito do tratamento combinado de extrato aquoso de mastruz com os EVCI em ratos diabéticos (Figura 3).

Figura 3 - Cronograma experimental



Fonte: O autor, 2023.

2.2 Procedimentos experimentais

2.2.1 Animais

Neste trabalho foram utilizados um total de 85 ratos machos (250-350 g), saudáveis, da linhagem *Wistar*, com 10 a 12 semanas de idade (jovem adulto), provenientes do biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental do IBRAG. Foram criados e mantidos num ciclo de 12 h claro/escuro (ciclo escuro a partir das 18h), com temperatura controlada (21 ± 1 °C) e com acesso livre à água filtrada e comida (ração comercial para roedores).

2.2.2 Indução a diabetes

A indução da diabetes nos animais foi realizada em todas as etapas do estudo, sendo está por injeção intraperitoneal com doses de 150 mg/kg de aloxana (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) preparada no momento do experimento em solução de NaCl a 0,9% (Olurishe et al., 2016). Uma dose única foi administrada a ratos por meio de uma seringa/ agulha de 0,5 mL. O estado de diabetes de ratos foi confirmado após 1 semana através da coleta de sangue

da ponta da cauda (Chan et al., 2012). Ratos com níveis de glicose em jejum $\geq 11,1$ mmol/L (200mg/dL) foram considerados diabéticos.

2.2.3 Análise do consumo de ração e da massa corporal

A análise da ingestão alimentar consistiu em uma oferta diária de 500g para cada grupo de animais estudados. As sobras de alimentos foram quantificadas em balança digital (FILIZOLA BP6, São Paulo, Brasil). Assim, a ingestão alimentar foi calculada como a diferença entre os 500 g fornecidos e as sobras de comida em cada dia (Cardoso et al, 2017). A massa corporal dos animais foi determinada semanalmente por meio de uma balança digital (FILIZOLA BP6, São Paulo, Brasil).

A partir das etapas II e III foi realizada a medição do comprimento do corpo dos animais, essa medida considerou o eixo longitudinal do naso-anal (Novelli et al, 2007), entre o focinho e a base da cauda, e a distância entre eles foi avaliada por uma régua de medição não flexível no primeiro e no último dia das intervenções. Assim, o índice de massa corporal (IMC) foi determinado pela massa corporal (g)/comprimento² (cm) (Novelli et al, 2007).

2.2.4 Análise bioquímica de biomarcadores sanguíneos

Vinte e quatro horas após o término dos tratamentos realizados nas etapas I, II e III, os animais foram anestesiados com quetamina (75 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) (Levin-Arama et al., 2016). Em seguida, foram coletadas amostras de sangue por punção cardíaca para a análise de biomarcadores sanguíneos. Os ratos foram mortos por exsanguinação por punção cardíaca seguindo as orientações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA)¹, Brasil.

¹ CONCEA. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/paginas/publicacoes-legislacao-e-guia/legislacao-do-concea>

Nas etapas I, II e III, as concentrações de biomarcadores sanguíneos selecionados (glicose, creatinina, ureia, proteína total, albumina, globulina, triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade-HDL, lipoproteína de baixa densidade-LDL, lipoproteína de densidade muito baixa-VLDL, cálcio, magnésio) foram determinadas. Assim como, a concentração de algumas enzimas (amilase, alanina aminotransferase-ALT, aspartato aminotransferase-AST, creatina quinase-CK, fosfatase alcalina-ALP e lipase). A análise foi realizada por equipamentos automatizados (COBAS INTEGRA 400 plus, ROCHE, Basel, Suíça) no Laboratório Central do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da UERJ.

2.3 Linha experimental da etapa I

2.3.1 Material vegetal

Foi utilizado extrato comercial seco (Chá & Cia – Ervas Medicinais, São José dos Campos, SP, Brasil) de mastruz (*Chenopodiaceae*). Para preparar o extrato, 300 mg de *C. ambrosioides* foram adicionados a 20 mL de água deionizada (*Permuton*, E.J Krieger & Cia Ltda-CNPJ, Curitiba, PR, Brasil) a 100°C e a preparação foi mantida em repouso durante 10 minutos (Cardoso et al, 2017). Em seguida, foi filtrada (filtro de papel comercial, Melitta, São Paulo, Brasil) e o sobrenadante proporcionalmente considerado 15 mg/ mL com base no cálculo de pesagem do balão cheio com a água deionizada (20mL) e extrato (300mg). Como controle de qualidade de preparo do extrato foi considerado o valor de absorbância máxima ($0,160 \pm 0,010$) a 440 nm, conforme descrito anteriormente por Cardoso et al., (2017).

3.3.2 Desenho experimental

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em quatro grupos: grupo controle (CON, n=5), grupo tratado com extrato aquoso de mastruz (CHE, n=5), grupo diabético controle sem tratamento (DC, n=5) e grupo diabético tratado com extrato aquoso de mastruz (D-CHE, n=5). O tratamento foi realizado por gavagem (Celik et al., 2013) e consistiu em aplicação oral de 1,0 mL de mastruz (15 mg/ mL) para os animais do grupo CHE e D-CHE. Os animais do grupos CON e DC receberam de 1,0 mL de água deionizada. A gavagem foi realizada entre segunda e sexta-feira das 9h às 10h da manhã durante 4 semanas.

3.3.3. Biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)

Foi realizada a biodistribuição do radiofármaco $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ para investigar o efeito do tratamento oral em diferentes órgãos. Após a etapa de anestesia, todos os animais anestesiados receberam 0,3 mL (550 kBq) do radiofármaco $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (1,85 MBq/mL) via plexo ocular. O $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ foi eluído (60 min antes) de um gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Frederico et al., 2017; Cardoso et al., 2019). Após 10 min, os animais foram mortos e os seguintes órgãos foram coletados: tireoide, estômago, rim, intestino, fígado, pâncreas, coração, baço e bexiga, e a radioatividade foi determinada em um contador de poços (Cardoso et al., 2019). As porcentagens da radioatividade injetada por grama (%ATI/g) nos órgãos foram calculadas seguindo Frederico et al., (2017).

Observação: Este procedimento não pode ser realizado nas etapas II e III devido ao período da pandemia de COVID-19 (2020-2021) que inviabilizou o uso do equipamento específico para o ensaio.

2.4 Linha experimental da etapa II

2.4.1 Exercício de vibração de corpo inteiro

Para a realização do EVCI, os animais submetidos a intervenção foram colocados em um contensor (Figura 4) com compartimentos individuais e justapostos (medindo 10x6x4 cm para 5 animais, patente nº BR 202015016054-8) fixo na base de uma PV de deslocamento síncrono (*Globus-Vibe 800, Itália*). Esta plataforma oferece vibrações mecânicas verticais senoidais. Os animais foram submetidos a 4 sessões de EVCI de 30s por dia, com tempo de descanso de 1 min entre eles, 5 vezes na semana, durante 5 semanas (variáveis biomecânicas: f - 50 Hz, A - 780 μm e a_{Peak} - 7,85 g). Os ratos não receberam habituação prévia ao procedimento. Durante as intervenções, os animais não foram constrangidos, porém, apresentaram atividade motora levemente excitada durante a primeira semana de intervenção, mas a partir da segunda semana, permaneceram principalmente na contenção em posição estática. Foram seguidas as diretrizes propostas para estudos com EVCI em animais (Van Heuvelen et al., 2021).

Figura 4 – Procedimento para realização do exercício de vibração de corpo inteiro



Legenda: Caixa de contenção com compartimentos individuais utilizados para ratos (Fig. 3A e 3B). Duas caixas foram fixadas na base da plataforma vibratória (Fig. 3C). Os animais são colocados nas caixas (na posição caudal-rostral) para procedimento de vibração de corpo inteiro (Fig. 3D).

Fonte: O autor, 2023.

2.4.2 Desenho experimental

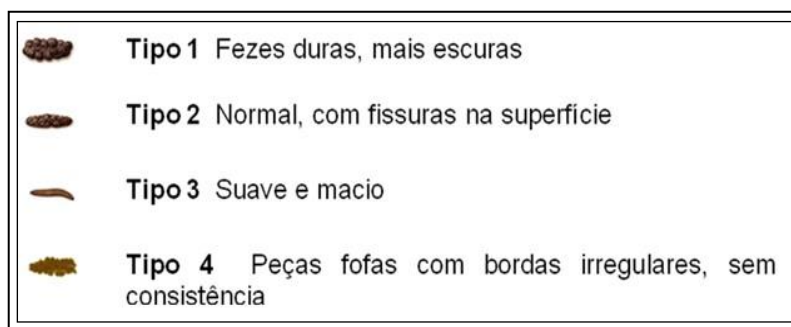
Os animais foram distribuídos de forma aleatória em três grupos: grupo controle (CON, n= 8), grupo diabético controle (DC, n= 8) e grupo diabético exposto a VM 50Hz (D-VBR, n= 9). Os procedimentos experimentais foram aplicados 5 dias/ semana durante 5 semanas. A intervenção foi realizada entre segunda e sexta-feira das 9h às 10h da manhã. Os animais dos grupos CON e DC foram também colocados no contensor, na base da plataforma por um período de 5min, porém estava desligada (Cardoso et al., 2019).

2.4.3 Análise da consistência das fezes

A consistência das fezes foi avaliada de forma qualitativa seguindo a escala de consistência de fezes para ratos proposta por Frederico et al., (2017). Três avaliadores independentes analisaram diariamente a consistência das fezes antes das intervenções e

escolheram um valor de acordo com a escala. Os valores variaram de 1 a 4 conforme descrito (Figura 5) com o Tipo 1 sendo fezes duras, secas e escuras; o Tipo 2 sendo normal com crostas na superfície; o Tipo 3 sendo liso e macio e o Tipo 4 sendo pedaços fofos com bordas irregulares (fezes moles). Foi considerada a mediana dessas três análises.

Figura 5 – Escala de consistência das fezes



Fonte: Frederico et al., 2017.

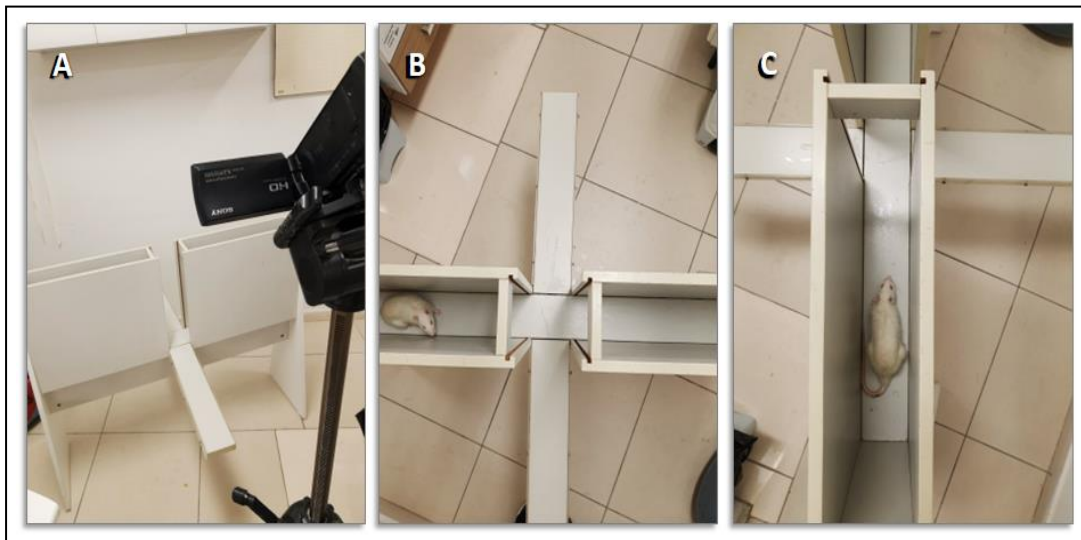
2.4.4 Testes comportamentais

Na última semana de tratamento, respeitando um tempo mínimo de 180 min após as intervenções conforme descrito por Keijser et al., (2017), os ratos foram submetidos a dois tipos de testes comportamentais descritos a seguir. No primeiro dia, os níveis comportamentais do tipo ansiedade foram avaliados no teste de labirinto em cruz elevado. Este teste foi realizado entre às 12 e às 15h. No dia seguinte, os camundongos foram submetidos ao teste de campo aberto, também entre 12 e 15h. Todos os testes foram realizados no mesmo período do ciclo circadiano dos ratos (fase leve do biotério). Os animais foram habituados por 5 minutos na sala de testes antes de iniciar o teste comportamental. Todos os ensaios foram realizados em uma sala de testes atenuada ao som ao lado do biotério e com luzes acesas. Para cada procedimento, os equipamentos foram limpos por meio de pulverização de solução de etanol 70% e papel toalha seco.

2.4.4.1 Teste de labirinto em cruz elevado

O teste denominado “Labirinto em Cruz Elevado” (LCE) foi inicialmente realizado para avaliar a ansiedade (Rodgers & Dalvi, 1997). O equipamento LCE tem formato de sinal de cruz e é composto por dois braços “abertos” (sem paredes, $5 \times 28,5$ cm) e dois “fechados” ($5 \times 28,5 \times 14$ cm), fixados perpendicularmente a partir de 50 cm de altura acima do chão (Figura 6). O teste iniciava-se com o animal (individualmente) sendo posicionado no centro do equipamento, de frente para um braço aberto. Cada teste durou 5 minutos e todos os testes foram gravados em vídeo. Portanto, a porcentagem (%) de entradas nos braços abertos (o número de entradas nos braços abertos dividido pelo número de entradas nos braços abertos + fechados) foi usada como uma medida para ansiedade (Rodgers & Dalvi, 1997). Além disso, o aumento da % de entradas no braço aberto corresponde à diminuição do estado semelhante à ansiedade e vice-versa. Adicionalmente, o número de entradas nos braços fechados foi usado como uma medida de atividade locomotora (Biala & Kruk, 2009). O tempo gasto no centro (TC) do labirinto também foi mensurado. Todas as variáveis foram pontuadas pela análise das imagens de vídeo em cada teste. O teste foi realizado na última semana das intervenções, na segunda-feira, das 12 às 15h da tarde.

Figura 6 – Teste do labirinto em cruz elevado



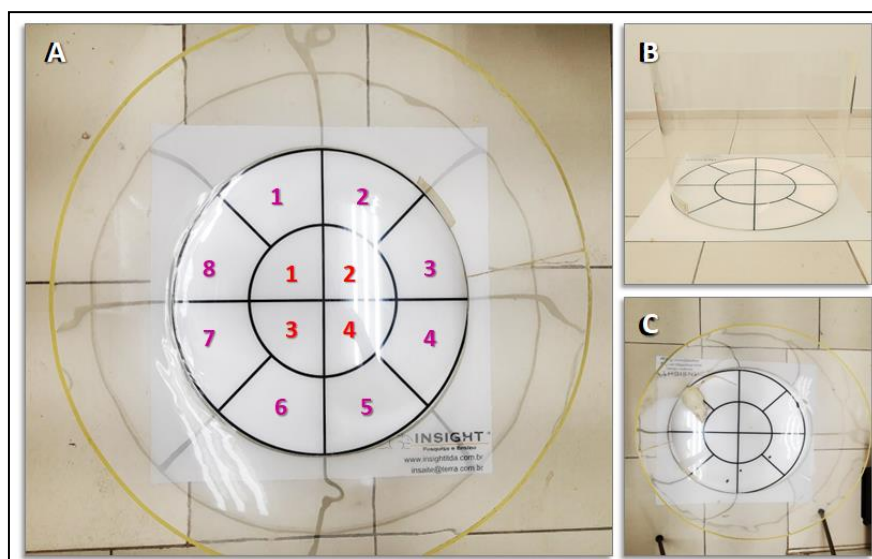
Legenda: (A) Equipamento, vista frontal; (B) Braço aberto, vista superior; (C) Braço fechado, vista superior.

Fonte: O autor. 2023

2.4.4.2 Teste de campo aberto

O teste denominado “Campo Aberto” (CA) foi realizado para avaliar a atividade locomotora/exploratória (Walsh & Cummins, 1976). O teste foi desenvolvido em uma caixa de acrílico redonda com parede transparente (46 cm de comprimento x 46 cm de largura x 43 cm de altura da parede) de forma que o animal não pudesse fugir (Figura 7). O piso da caixa é marcado por linhas pretas circulares e radiais (8 periféricos e 4 centrais) que são utilizados na quantificação da atividade locomotora do animal. Da mesma forma, pode-se utilizar o tempo despendido do animal no centro do CA como medidas de ansiedade. Cada rato foi colocado individualmente no centro da área de teste e foi permitido explorar livremente o novo ambiente por 5 minutos. O teste foi filmado para que os parâmetros comportamentais relacionados a locomoção, ansiedade, reatividade emocional e atividade motora vertical fossem avaliados posteriormente. As variáveis mensuradas foram o número de quadrados percorridos na periferia e no centro do equipamento, bem como o tempo (em segundos) despendido nestas duas áreas do CA. A atividade locomotora total correspondeu a soma do número de setores percorridos (na periferia e no centro). O teste foi realizado na última semana das intervenções, na terça-feira das 12 às 15h da tarde.

Figura 7 – Teste do campo aberto



Legenda: (A) Piso da arena marcado por linhas pretas circulares e radiais, sendo 4 centrais (vermelho) e 8 periféricas (lilás), vista superior; (B) Equipamento, vista frontal; (C) Animal durante a realização do teste, vista superior.

Fonte: O autor, 2023.

2.4.5 Análise neuroquímica

Esta etapa foi executada entre o período de novembro de 2022 e fevereiro de 2023 no Laboratório Multiusuário de Pesquisa em Espectrometria de Massas aplicada a Biomoléculas (Laboratório MultiMassas), no IBRAG, situado no Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha (PHLC) na UERJ.

2.4.5.1 Reagentes

Os seguintes reagentes foram utilizados: Cloridrato de dopamina, cloridrato de serotonina, ácido 3,4-diidroxifenilacético (DOPAC), 5-hidroxiindol-3-acético (5-HIAA), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido L-glutâmico, L-glutamina, cloreto de colina, acetilcolina cloreto, L-fenilalanina, mistura de catecolaminas (norepinefrina e epinefrina), L-tirosina, levodopa, L-triptofano e cloridrato de isoprenalina (Sigma-Aldrich). Acetonitrila de grau LC/MS, água e ácido fórmico (pureza >98%) fornecidos pela empresa Merck (LC-MS LiChropur™).

2.4.5.2 Análise cromatográfica

As análises cromatográficas foram realizadas em um sistema *Acquity UPLC* (Waters, Milford, MA, EUA), usando uma coluna *Acquity Premier BEH Amida 1,7uM VanGuard* (50 mm $\times$ 2,1 mm) da empresa Waters. A detecção por espectrometria de massa foi realizada usando um espectrômetro de massa *Waters TQD Tandem Quadrupole* (Waters, Manchester, Reino Unido). As centrifugações foram realizadas em uma centrífuga Eppendorf® modelo 5427R. O homogeneizador de tecidos *Precellys 24* (Bertin Technologies) foi usado para homogeneização de tecidos.

O tecido cerebral, córtex pré-frontal (PFC) ou hipocampo coletados após a análise bioquímica, foi transferido para tubos *Precellys* previamente identificados contendo 8uL de padrão interno de isoprenalina (1mM) e 500uL de ácido fórmico a 2% frio / 1mM de ácido

ascórbico diluído em água. As amostras foram homogeneizadas (*Precellys* programa: 6000 rpm / 3 x 15 s / 20 s) mantendo a temperatura em torno de 12°C. O homogeneizado foi transferido para microtubos de 1,5mL com 500uL de água gelada LC-MS (volume final de 1mL), homogeneizado e centrifugado a 14000 rpm (20817 x g) / 4° C / 30 min. O sobrenadante (200uL) foi transferido para um novo microtubo de 1,5mL e 800uL de acetonitrila gelada grau LC-MS foram adicionados para precipitação de proteínas. Após a homogeneização em vórtice, foi realizada outra centrifugação. Os sobrenadantes (± 1000 uL) foram transferidos para um novo microtubo de 1,5mL. Para o tecido PFC, 150 uL do sobrenadante foram transferidos para um frasco contendo 750uL do diluente (70% ACN + 0,1% AF), já para o hipocampo foram utilizados 500uL de sobrenadante e 500uL de diluente. Em seguida, as amostras foram injetadas no LC-MS/MS. O restante do sobrenadante foi coletado e armazenado no freezer a -80°C como reserva. A diluição total para PFC de camundongo foi de 30x e para hipocampo foi de 10x a partir de tecido pesado e homogeneizado.

Para cromatografia, os analitos foram separados com uma fase móvel composta por água com 0,1% (v/v) de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila com 0,1% (v/v) de ácido fórmico (eluente B) a uma vazão de 0,3 ml/min. Os analitos eram predominantemente polares, portanto, foi utilizada a coluna de amida (fase normal) com o eluente A como eluente principal. Foi conduzido um perfil de gradiente, partindo de 18% do eluente A, mantendo essa composição constante por 2min, aumentando para 22% até 2,5 min, para 24% até 3min e por último para 28% até 5min, onde todos os analitos de interesse foram eluídos. A etapa de limpeza começou aumentando de 28% (A) para 100% (A) em 30s. Esta composição foi mantida por mais 2,5 min em 100% (A), retornando às condições iniciais em 1 min, seguido por um tempo de reequilíbrio de 2 min, para dar um tempo total de execução de 11 min. Duplicatas da amostra de 1 e 5uL de volume foram injetadas no sistema cromatográfico. Com injeções de 5uL utilizadas para analitos com menor concentração ou que resultaram em menor desvio padrão e injeção com 1uL utilizadas para aqueles com interferência de matriz.

2.5 Linha experimental da etapa III

2.5.1 Material vegetal

Verificar item 2.3.1.

2.5.2 Exercício de vibração de corpo inteiro

Verificar item 2.4.1.

3.5.3 Desenho experimental

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em cinco grupos: grupo controle (CON, n=8), grupo diabético controle (DC, n=8), grupo diabético tratado com EA de mastruz (D-CHE, n=8), grupo diabético exposto a VM 50Hz (D-VBR, n= 8) e grupo diabético tratado com extrato aquoso de mastruz (CHE+VBR, n=8). O tratamento oral foi realizado por gavagem (Celik et al., 2013) e consistiu em aplicação oral de 1,0 mL de mastruz (15 mg/ mL) para os animais do grupo D-CHE e CHE+VBR, e de 1,0 mL de água deionizada para os animais dos grupos CON, DC e D-VBR. A gavagem foi realizada entre seg. e sex. das 9h às 9h30 da manhã durante 4 semanas. Em seguida, os animais dos grupos D-VBR e CHE+VBR foram colocados no contensor para realização do EVCI. Os animais dos grupos CON, DC e D-CHE foram também colocados no contensor, na base da plataforma por um período de 5min, porém com ela desligada (Cardoso et al., 2019). A intervenção foi realizada entre segunda e sexta-feira das 9h30 às 11h da manhã.

2.5.4 Análise da consistência das fezes

Verificar item 2.4.3.

2.5.5 Testes comportamentais

Na última semana de tratamento, os ratos foram submetidos aos testes de labirinto em cruz elevado e de campo aberto.

2.5.5.1 Teste de labirinto em cruz elevado

Verificar item 2.4.4.1.

2.5.5.2 Teste de campo aberto

Verificar item 2.4.4.2.

2.6 **Elaboração de revisão sistemática**

Artigo publicado em 5 de Agosto de 2022 na revista *Behavioural Brain Research* (fator de impacto 3,304), intitulado *Beneficial effects of whole-body vibration exercise for brain disorders in experimental studies with animal models: a systematic review*, volume 431, página 113933. Verificar ANEXO 1, página 84.

2.7 Análise quantitativa

A análise dos dados foi realizada com auxílio do *software* GraphPad Prism 6.0. De forma preliminar, as distribuições de dados foram avaliadas quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para uma amostra. As distribuições foram consideradas paramétricas para valores de $p\text{-valor} \geq 0,05$ (bicaudal). As análises posteriores foram conduzidas considerando-se esta característica. Os dados com distribuição paramétrica foram expressos como médias $\pm$ erros padrão das médias. Diferenças estatísticas foram consideradas quando o $p\text{-valor} < 0,05$.

Massa corporal e consistência das fezes: os dados foram analisados usando-se o teste de análise de variância unidirecional (ANOVA) de repetição. O efeito do tratamento (ausente, individual e combinado) foi utilizado como fator e a semana como fator de repetição.

IMC: os dados (Antes ou Depois) intergrupos foram avaliados primeiro por ANOVA, para reduzir a probabilidade de erros tipo 1, o tratamento foi utilizado como fator. Depois, foi realizado o teste *t*-Student pareado para comparação (Antes e Depois) intragrupo.

Consumo: os dados foram apresentados como mediana e desvio interquartilico. Para esta variável, considerando os dados diários de ingestão, a ANOVA foi utilizada. O tratamento foi utilizado como fator

Medidas sanguíneas: Os resultados foram avaliados primeiro por ANOVAs em cada variável (biomarcadores gerais e enzimas). O tratamento foi utilizado como fator.

Medidas comportamentais: Para os dois testes, ANOVAs foram realizadas para cada variável (LCE: %Tempo BA, %Entradas BA, Entradas BF e Tempo Cen; CV: Tempo Cen, Ambulação, Atividade vertical, Reatividade emocional). Para as diferenças observadas, foi realizado o teste *t*-Student pareado para comparar o efeito do tratamento vs controle diabético.

Medidas neuroquímicas: Os resultados foram avaliados primeiro por ANOVAs em cada variável (neurotransmissores, metabólitos e razão neurotransmissor/ metabólito). Diferenças entre grupos individuais foram analisadas utilizando o teste de múltiplas comparações de Tukey como *post-hoc*.

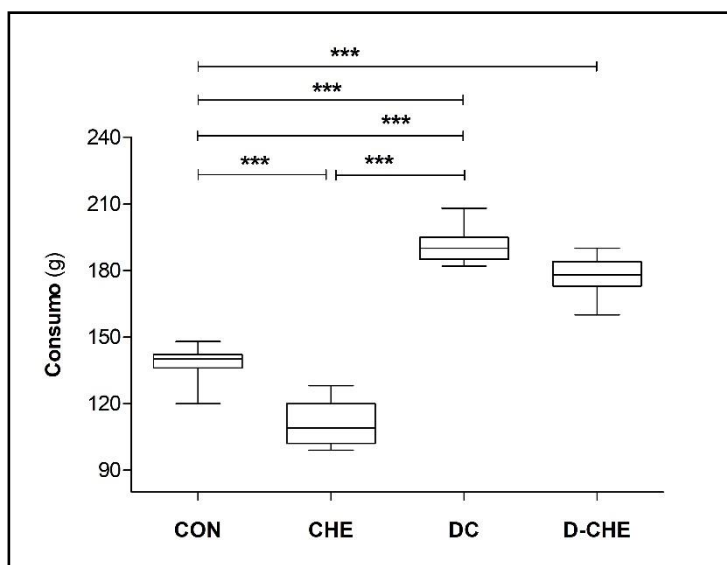
3 RESULTADOS

3.1 Etapa I

3.1.1 Consumo de ração

Em relação ao consumo alimentar, observou-se aumento significativo ($p<0,0001$) na média de consumo dos animais diabéticos, conforme mostrado na Figura 8. O grupo DC apresentou uma maior ingestão de ração ($p<0,0001$) quando comparado ao demais grupos ao longo das 5 semanas. Além disso, os ratos diabéticos tratados com mastruz (D-CHE) tiveram um aumento no consumo ($p<0,0001$) comparados aos animais sadios ($p<0,0001$). No entanto, houve uma diminuição no consumo nos ratos sadios que receberam o extrato (grupo CHE), em comparação aos outros grupos.

Figura 8 – Consumo de ração em animais sadios e diabéticos durante 5 semanas



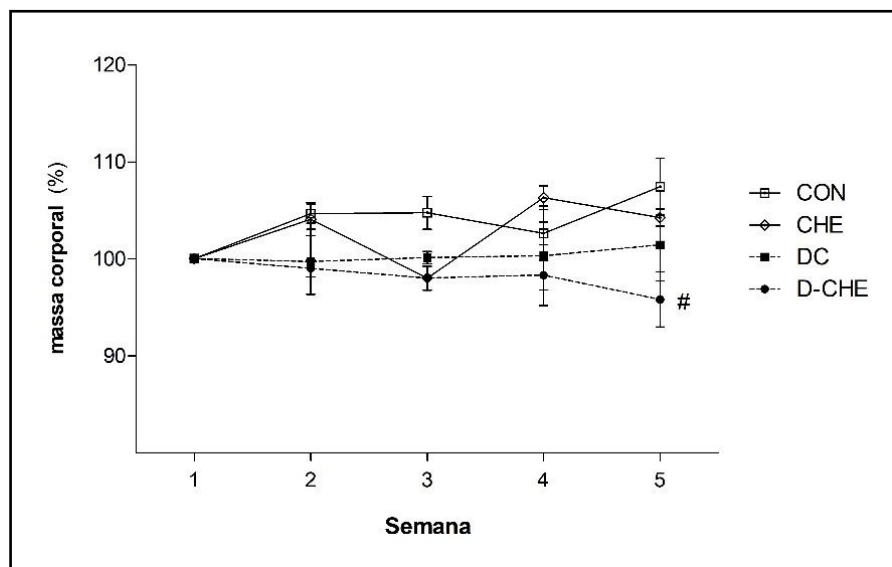
Legenda: Média de consumo de ração ao longo de 5 semanas de tratamento oral. CON – grupo controle (n=5); CHE – grupo tratado com mastruz (n=5); DC – grupo diabético controle (n=5); D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz (n=5); Valores são expressos em mediana $\pm$ desvio interquartil (IQR). Teste ANOVA, *** $p<0,0001$.

Fonte: O autor, 2023.

3.1.2 Massa corporal

Os efeitos do tratamento oral foram avaliados entre os grupos, conforme a Figura 9. No dia 0, a massa corporal dos animais dos diferentes grupos foi considerada 100%. Após 5 semanas, o TO com mastruz reduziu ($p<0,01$) a porcentagem de massa corporal nos ratos diabéticos (grupo D-CHE, $95,80\pm2,30$) em comparação aos modelos sadios que não receberam o extrato (grupo CON, $103,9\pm2,76$). Da mesma forma, uma diminuição significativa ($p<0,05$) foi confirmada em relação ao tratamento feito com mastruz em ratos diabéticos (grupo D-CHE, $98,2\pm1,55$) e sadios (grupo CHE, $102,50\pm3,41$). Nenhuma diferença estatística foi encontrada em relação ao grupo DC ($100,3\pm0,66$).

Figura 9 – Massa corporal de animais sadios e diabéticos durante 5 semanas



Legenda: Porcentagem de massa corporal mensurada semanalmente. CON – grupo controle (n=5); CHE – grupo tratado com mastruz (n=5); DC – grupo diabético controle (n=5); D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz (n=5); Valores são expressos em média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M). Teste ANOVA de repetição, # $p<0,01$ D-CHE vs CON, # $p<0,05$ D-CHE vs CHE.

Fonte: O autor, 2023.

3.1.3 Biodistribuição do radiofármaco

A Tabela 1 mostra a porcentagem da dose injetada (%ATI/g) de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ nos diversos órgãos isolados dos animais submetidos aos diferentes tratamentos. No grupo DC foi observado aumento significativo ($p < 0,05$) na captação do radiofármaco $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ no intestino e pâncreas em relação ao CON. Por outro lado, o tratamento com mastruz (grupo D-CHE) diminuiu ($p < 0,05$) a captação de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ no intestino e pâncreas de animais diabéticos em comparação ao grupo DC.

Tabela 1 – Porcentagem (%ATI/g) de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ em diferentes órgãos dos animais submetidos ao tratamento oral.

Órgãos	%ATI/g				p-valor
	CON	CHE	DC	D-CHE	
Baço	0,69 ± 0,21	0,66 ± 0,05	1,28 ± 0,66	0,67 ± 0,18	0,2820
Bexiga	0,96 ± 0,24	1,64 ± 0,67	1,33 ± 0,39	0,99 ± 0,20	0,2483
Coração	0,62 ± 0,23	0,73 ± 0,15	1,35 ± 0,59	0,63 ± 0,23	0,0659
Estômago	5,83 ± 2,10	8,97 ± 1,74	9,36 ± 3,09	4,67 ± 2,41	0,0667
Fígado	3,48 ± 3,59	1,99 ± 0,29	3,03 ± 0,24	1,77 ± 0,21	0,0765
Intestino	0,77 ± 0,68	0,86 ± 0,39	1,67 ± 0,32*	0,31 ± 0,09 [#]	0,0219
Pâncreas	0,83 ± 0,03	0,72 ± 0,15	1,09 ± 0,27*	0,59 ± 0,17 [#]	0,0337
Rins	1,25 ± 0,36	1,48 ± 0,17	1,41 ± 0,41	1,09 ± 0,15	0,2065
Tireoide	1,18 ± 0,92	1,48 ± 0,15	0,98 ± 0,72	0,81 ± 0,17	0,3285

Legenda: Porcentagem de dose injetada de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ em órgãos isolados dos animais submetidos aos diferentes tratamentos. CON – grupo controle (n=5); CHE – grupo tratado com mastruz (n=5); DC – grupo diabético controle (n=5); D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz (n=5); Valores são expressos em média ± desvio padrão (DP), p-valor. Teste ANOVA, * $p < 0,01$ D-CHE vs CON, [#] $p < 0,05$ D-CHE vs CHE.

Fonte: O autor, 2023.

3.1.4 Análise bioquímica

Os efeitos do tratamento oral na análise bioquímica do sangue confirmam o aumento significativo nos níveis de glicose ($p < 0,0001$) em ratos diabéticos (DC e D-CHE) em comparação com grupos sadios (Tabela 2). Além disso, foi observado um aumento nos níveis de triglicerídeos ($p < 0,05$) no grupo DC em relação aos animais sadios. No tratamento com mastruz houve uma diminuição ($p < 0,05$) nos níveis de triglicerídeos em ratos diabéticos (D-CHE). Por outro lado, houve um aumento nos níveis de proteína total ($p < 0,05$) no grupo sadio tratado com mastruz (CHE) quando comparado com os grupos controle, DC e D-CHE.

Tabela 2 – Concentração sanguínea de biomarcadores com 5 semanas em animais submetidos aos diferentes tratamentos

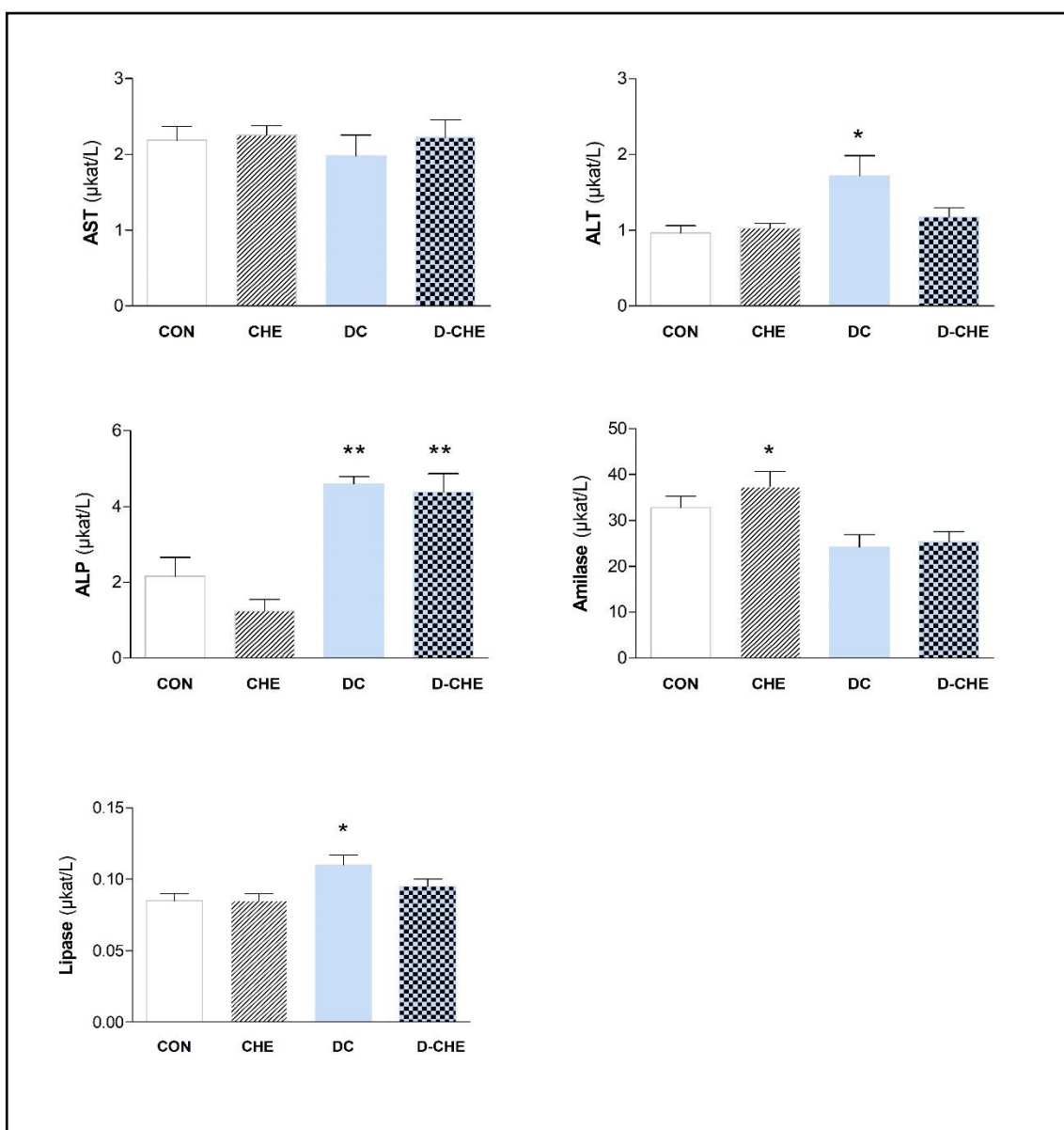
Biomarcadores séricos	CON	CHE	DC	D-CHE	<i>p</i>
Glicose (mmol/L)	13,62 ± 1,91	10,18 ± 0,76	35,37 ± 0,05**	36,85 ± 3,55**	0,0001
Compostos nitrogenados					
Creatinina (μmol/L)	38,01 ± 8,84	39,78 ± 8,84	35,36 ± 8,7	42,43 ± 8,84	0,2401
Ureia (mmol/L)	10,95 ± 0,91	13,1 ± 2,94	13,61 ± 2,93	13,70 ± 3,91	0,3760
Proteínas					
Proteína total (g/L)	58 ± 4,0	64 ± 1,0 ^a	57 ± 3,0	56 ± 4,0	0,0304
Albumina (g/L)	36 ± 1,0	38 ± 4,0	32,80 ± 1,0	33 ± 3,0	0,0504
Lipídios					
Triglicerídeos (mmol/L)	0,66 ± 0,14	0,69 ± 0,25	1,70 ± 0,74*	0,80 ± 0,24 [#]	0,0246
Colesterol total (mmol/L)	1,2 ± 0,18	1,42 ± 0,36	1,59 ± 0,37	1,41 ± 0,28	0,5374
HDL (mmol/L)	1,24 ± 6,1	1,45 ± 12,8	1,47 ± 0,22	1,31 ± 0,23	0,4703
Minerais					
Cálcio (mmol/L)	2,4 ± 0,03	2,48 ± 0,1	2,52 ± 0,07	2,52 ± 0,1	0,1909
Magnésio (mmol/L)	1,07 ± 0,08	1,11 ± 0,2	1,03 ± 0,1	1,19 ± 0,08	0,1150

Nota: Determinação bioquímica do soro sanguíneo de ratos sadios e diabéticos. CON – grupo controle (n=5); CHE – grupo tratado com mastruz (n=5); DC – grupo diabético controle (n=5); D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz (n=5); HDL – lipoproteína de alta densidade. Valores são expressos em média ± DP, *p*-valor. Teste ANOVA, * $p < 0,05$ vs CON e CHE, ** $p < 0,0001$ vs CON e CHE, [#] $p < 0,05$ vs DC, ^a $p < 0,05$ vs CON, DC e D-CHE.

Fonte: O autor, 2023.

Conforme mostrado na Figura 10, com 5 semanas de tratamento observou-se no soro sanguíneo dos ratos diabéticos (DC e D-VBR) um aumento significativo ($p<0,01$) na atividade enzimática de ALP em comparação com os animais saudáveis (CON e CHE). Além disso, foi observado um aumento ($p<0,05$) nos níveis de ALT e Lipase no grupo DC em relação aos demais grupos. Ademais, nos ratos saudáveis o tratamento com mastruz aumentou ($p<0,05$) os níveis de amilase em comparação com os ratos diabéticos.

Figura 10 – Enzimas determinadas em animais saudáveis e diabéticos



Legenda: Enzimas séricas determinadas em animais saudáveis e diabéticos. μkat – microkatal; AST – aspartato aminotransferase; ALT – alanina aminotransferase; ALP – fosfatase alcalina; CON – grupo controle (n=5); CHE – grupo tratado com mastruz (n=5); DC – grupo diabético controle (n=5); D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz (n=5); Valores são expressos em média ± E.P.M. Teste ANOVA * $p<0,05$, ** $p<0,01$.

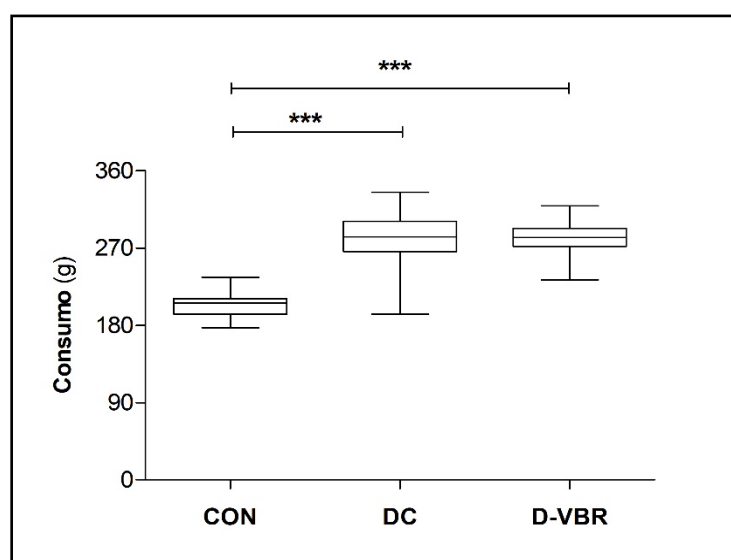
Fonte: O autor, 2023.

3.2 Etapa II

3.2.1 Consumo de ração

Na etapa 2, observou-se um consumo maior nos animais diabéticos, conforme mostrado na Figura 11. O grupo DC apresentou a maior média de consumo de ração entre os grupos durante o tratamento de 5 semanas. Adicionalmente, os grupos DC e D-VBR tiveram um aumento significativo no consumo ($p < 0,001$) comparados aos animais saudáveis. Porém, não houve diferença no consumo entre os grupos DC e D-VBR.

Figura 11 – Consumo de ração em animais saudáveis e diabéticos durante 5 semanas



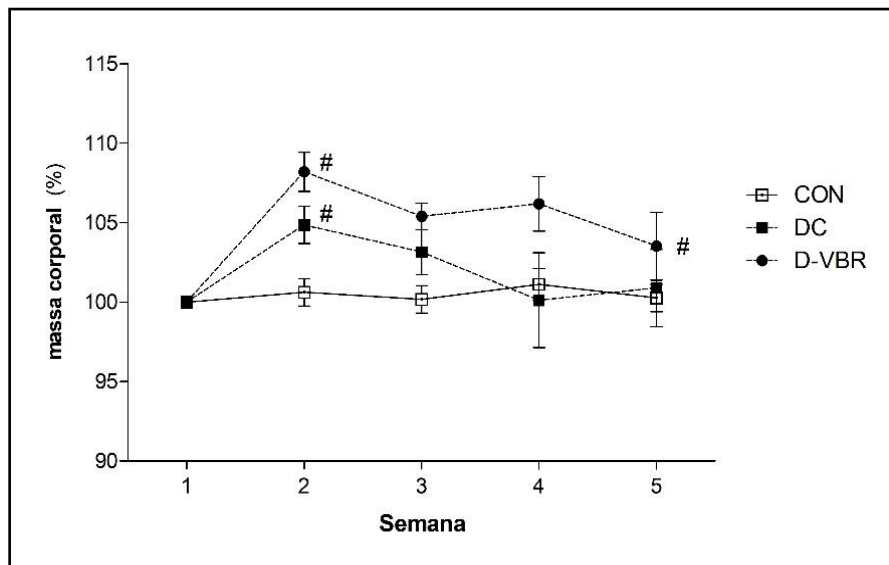
Legenda: Média de consumo de ração ao longo de 5 semanas de tratamento. CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em mediana ± IQR, p -valor. Teste ANOVA, *** $p < 0,0001$

Fonte: O autor, 2023.

3.2.2 Massa corporal e IMC

O efeito da intervenção por EVCI sobre a massa corporal é mostrado na Figura 12. No dia 0 (1ª semana), a massa corporal dos animais dos diferentes grupos foi considerada 100%. Na 2ª semana, a porcentagem de massa dos ratos diabéticos (DC, $104,9 \pm 3,33$; D-VBR, $108,2 \pm 3,56$) aumentou de forma significativa ($p < 0,01$) em relação ao controle (CON, $100,6 \pm 2,45$). Além disso, ao longo das 5 semanas o tratamento com EVCI (D-VBR, $104,7 \pm 0,44$) aumentou ($p < 0,01$) a porcentagem de massa corporal dos ratos diabéticos em relação ao grupo controle (CON, $100,4 \pm 3,09$). Contudo, nenhuma diferença foi encontrada em relação ao grupo DC ($101,8 \pm 2,12$).

Figura 12 – Massa corporal de animais saudáveis e diabéticos durante 5 semanas.

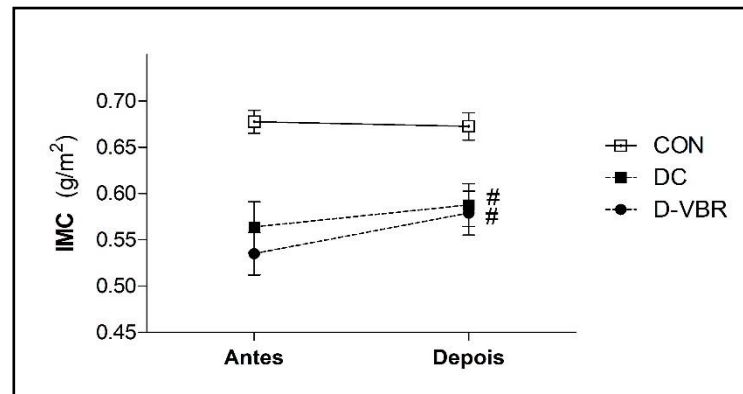


Legenda: CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M, p -valor. Teste ANOVA de repetição, # $p < 0,01$ DC vs CON.

Fonte: O autor, 2023.

A análise do IMC foi conduzida antes e após as intervenções (Figura 13). O IMC dos ratos diabéticos (DC, $0,56 \pm 0,02$ [antes], $0,58 \pm 0,02$ [após]; D-VBR, $0,53 \pm 0,02$ [antes], $0,57 \pm 0,02$ [após]) foi estatisticamente menor ($p < 0,05$) do que em ratos saudáveis (CON, $0,67 \pm 0,01$ [antes], $0,67 \pm 0,01$ [após]). Além disso, houve um aumento do IMC dos ratos diabéticos quando comparados os dados coletados antes e após o tratamento (DC, $p = 0,0209$; D-VBR, $p = 0,0026$).

Figura 13 – Índice de massa corporal de ratos saudáveis e diabéticos.



Legenda: Análise do IMC realizada antes (dia 0) e depois (dia 33) das intervenções. CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M, p -valor. Teste t -Student pareado [#] $p<0,01$ antes vs após.

Fonte: O autor, 2023.

3.2.3 Análise bioquímica

Na análise bioquímica realizada após 5 semanas de tratamento observou-se em ratos diabéticos (DC e D-VBR) um aumento significativo ($p<0,0001$) nos níveis séricos de glicose e ureia em comparação aos ratos saudáveis (Tabela 3). Além disso, no grupo DC houve um aumento ($p<0,01$) nos níveis de triglicerídeos, colesterol total, HDL, cálcio e magnésio quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, os animais do grupo D-VBR tiveram também um aumento ($p<0,01$) nos níveis de colesterol e HDL em relação ao controle.

Tabela 3 – Concentração sanguínea de biomarcadores em animais sadios e diabéticos com 5 semanas

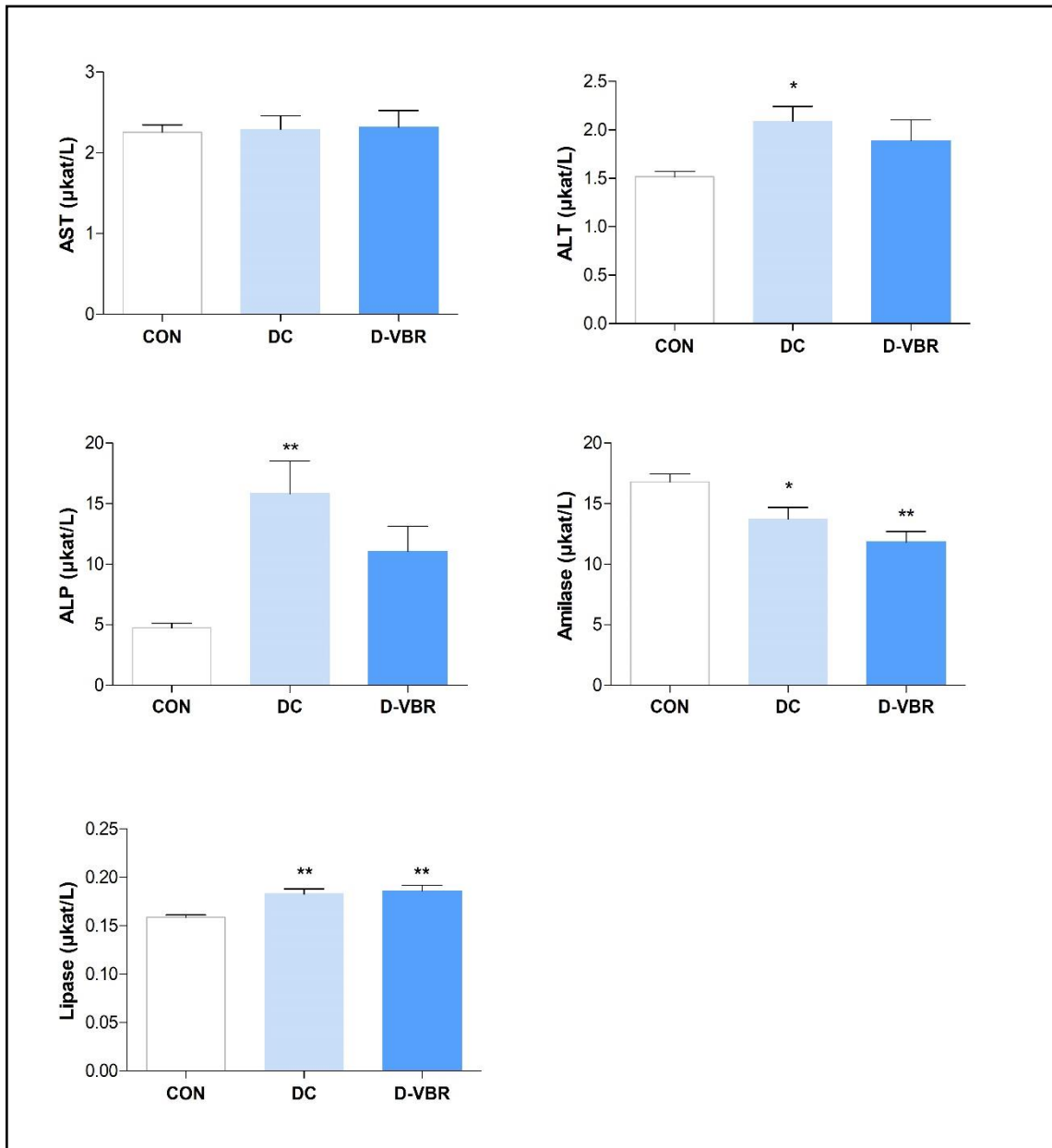
Biomarcadores séricos	CON	DC	D-VBR	<i>p</i>
Glicose (mmol/L)	13,4 ± 3,34	34,64 ± 2,82 [#]	32,64 ± 4,92 [#]	<0,0001
Compostos nitrogenados				
Creatinina (μmol/L)	44,02 ± 2,65	53,92 ± 9,72	55,69 ± 11,49	0,0677
Ureia (mmol/L)	7,75 ± 0,57	17,57 ± 2,71 [#]	16,74 ± 4,91 [#]	<0,0001
Proteínas				
Proteína total (g/L)	61,3 ± 1,8	60,60 ± 5,5	61,1 ± 4,1	0,9431
Albumina (g/L)	37,9 ± 1,4	36 ± 2,8	35,1 ± 2,4	0,2776
Globulina (g/L)	23,1 ± 1,7	24,9 ± 4,0	25 ± 4,0	0,5411
Lipídios				
Triglicerídeos (mmol/L)	0,52 ± 0,13	0,84 ± 0,17 ^{**}	0,72 ± 0,14	0,0022
Colesterol total (mmol/L)	1,0 ± 0,06	1,35 ± 0,1 ^{**}	1,34 ± 0,25 ^{**}	0,0010
HDL (mmol/L)	0,45 ± 0,04	0,69 ± 0,09 ^{**}	0,71 ± 0,16 ^{**}	0,0002
Minerais				
Cálcio (mmol/L)	2,57 ± 0,05	2,92 ± 0,2 ^{**}	2,75 ± 0,17	0,0021
Magnésio (mmol/L)	0,92 ± 0,05	1,11 ± 0,15 [*]	1,09 ± 0,19	0,0365

Nota: Determinação bioquímica do soro sanguíneo de ratos sadios e diabéticos . CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); HDL – lipoproteína de alta densidade. Valores são expressos em média ± DP. **p*<0,05 vs CON, ***p*<0,01 vs CON, [#]*p*<0,0001 vs CON.

Fonte: O autor, 2023.

Conforme mostrado na Figura 14, após 5 semanas de tratamento observou-se no soro sanguíneo de ratos diabéticos (DC) um aumento significativo nos níveis enzimáticos de ALT (*p*<0,05), ALP e lipase (*p*<0,01), e uma diminuição nos níveis de amilase (*p*<0,01) em comparação com o grupo controle. Por sua vez, nos ratos que receberam a intervenção por EVCI observou-se também um aumento nos níveis de lipase (*p*<0,01) e diminuição da atividade enzimática de amilase (*p*<0,01).

Figura 14 – Enzimas determinadas em animais sadios e diabéticos



Legenda: Enzimas séricas determinadas em ratos sadios e diabéticos. CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); μkat – microkatal; AST – aspartato aminotransferase; ALT – alanina aminotransferase; ALP – fosfatase alcalina. Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M, p -valor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

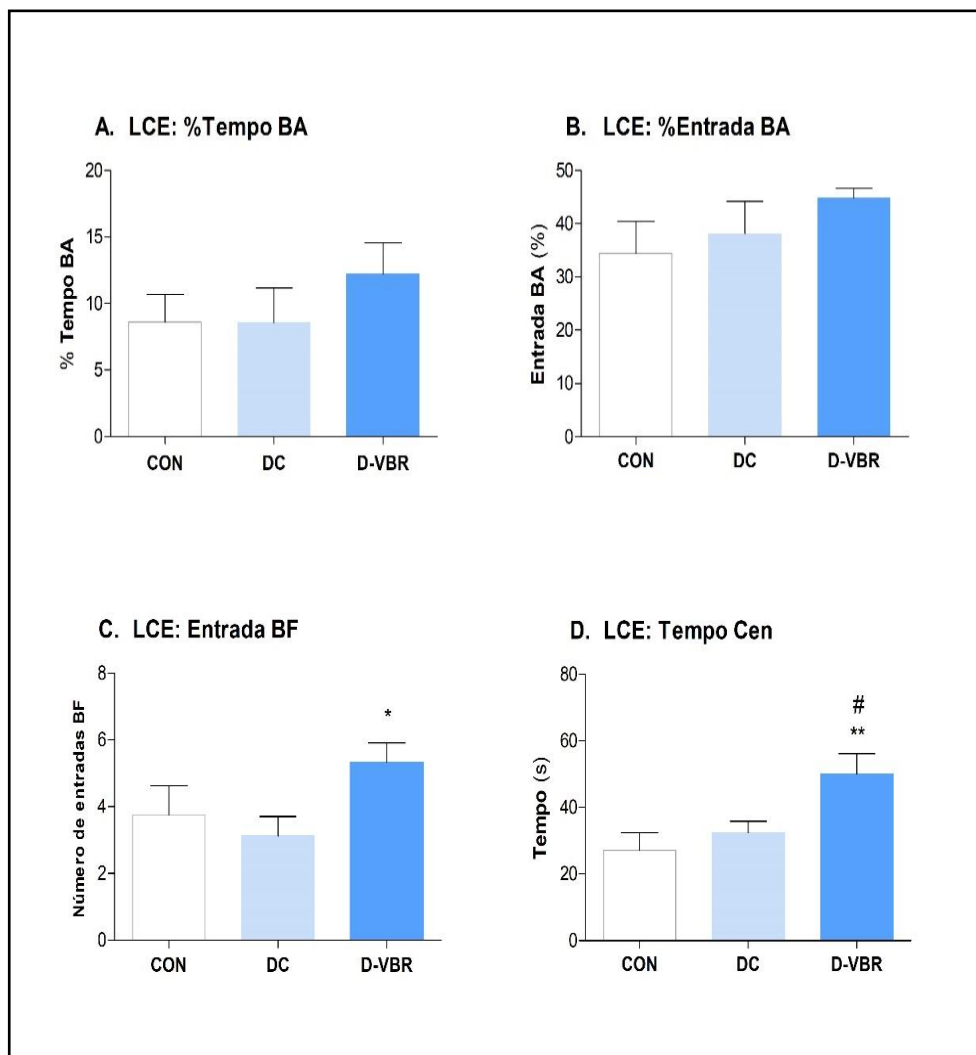
Fonte: O autor, 2023.

3.2.4 Testes de comportamento

3.2.4.1 Teste do labirinto em cruz elevado

Com base nas medidas utilizadas para avaliar comportamento associado a ansiedade no LCE (%Tempo BA e %Entrada BA), não houve influência do exercício no tempo de permanência dos ratos diabéticos nos braços abertos (Figura 15 A-B). Contudo, os animais expostos ao EVCI apresentaram aumento da atividade locomotora (Entrada BF: $t=2,3$, $df=13$, $p<0,05$; Figura 15 C) e aumento no tempo no centro do aparelho ($F=5,4$, $df=2$, $p<0,05$; Figura 15 D).

Figura 15 – Efeitos do tratamento no teste do labirinto em cruz elevado



Legenda: Teste do labirinto em cruz elevado. (A) %Tempo BA – percentual de tempo nos braços aberto; (B) %Entrada BA – percentual de entrada em braços abertos; (C) Entrada BF – percentual de entrada em braços fechados; (D) Tempo Cen – tempo no centro; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. * $p < 0,05$ vs CON; ** $p < 0,01$ vs CON; # $p < 0,05$ vs DC

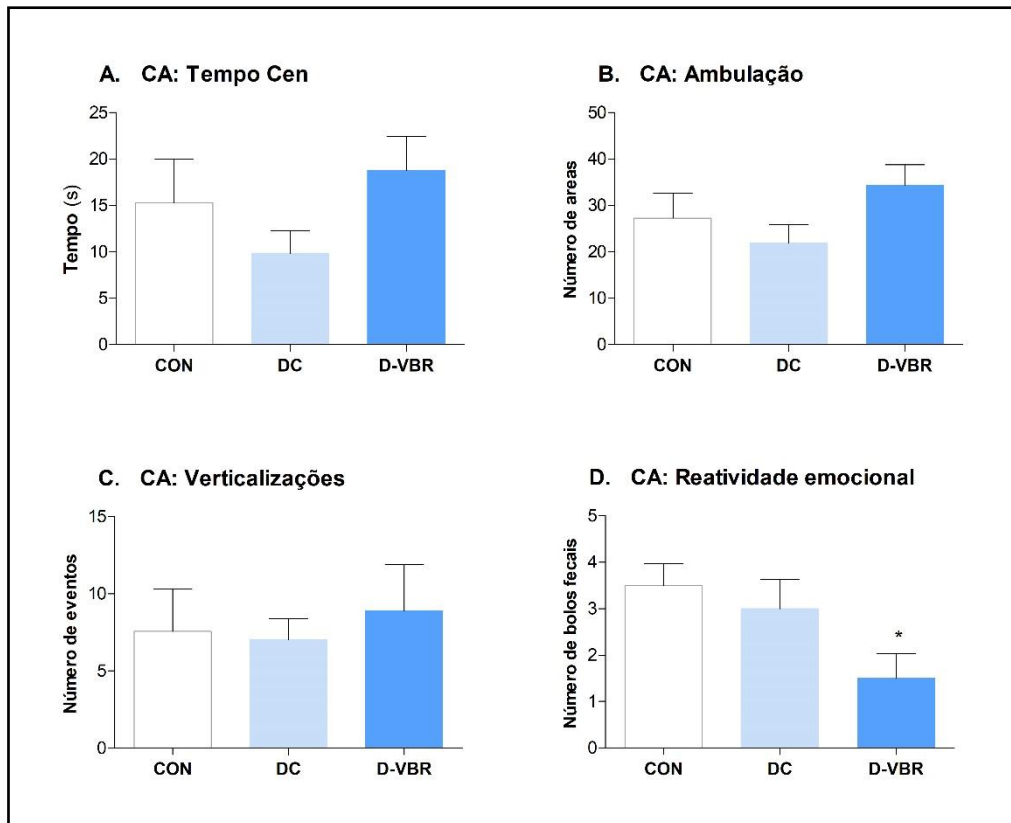
Fonte: O autor, 2023.

3.2.4.2 Teste do campo aberto

No teste do CA, os animais diabéticos (DC) apresentaram um tempo de permanência no centro do equipamento menor que os animais que fizeram o exercício (D-VBR), mas não

houve diferença estatística (Figura 16 A). Além disso, o tratamento por EVCI não foi capaz, neste teste, de afetar a ambulação total (Figura 16 B) e o comportamento exploratório avaliado pela atividade vertical (Figura 16 C). Porém, a avaliação da formação de bolos fecais durante o teste mostrou que no tratamento por EVCI a ação de defecar diminuiu ($F=3,6$, $df=2$, $p < 0,05$; Figura 13 D).

Figura 16 – Efeitos do tratamento no teste do campo aberto



Legenda: Teste do campo aberto. CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. * $p < 0,05$ vs CON

Fonte: O autor, 2023.

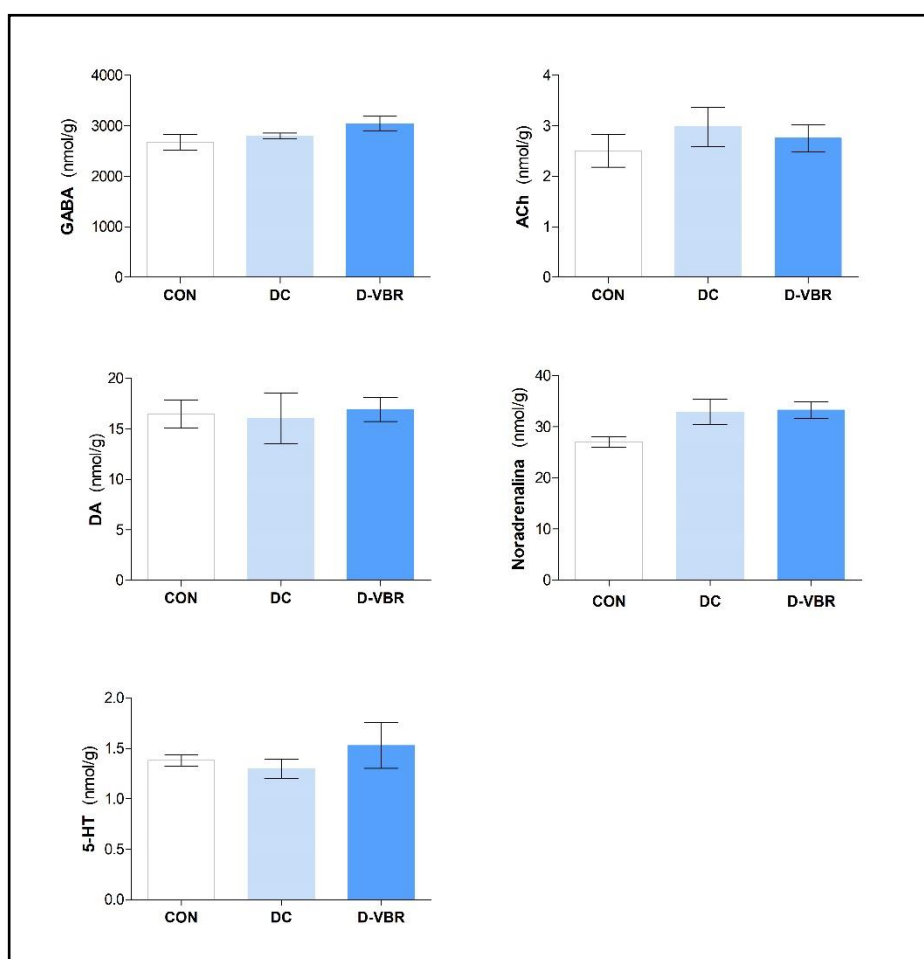
3.2.5 Análise neuroquímica

Com base nas variáveis utilizadas para avaliar o comportamento associado a ansiedade, adicionalmente foi investigado os efeitos do exercício a nível molecular, foi realizada análise de tecido cerebral do PFC e Hipocampo.

3.2.5.1 Córtex Pré-Frontal

Tendo em vista o estado diabético nos animais, independente de terem sido tratados ou não com o EVCI, não houve nenhum efeito ou interações de neurotransmissores no PFC em relação aos ratos saudáveis (Figura 17).

Figura 17 – Concentrações de neurotransmissores no córtex



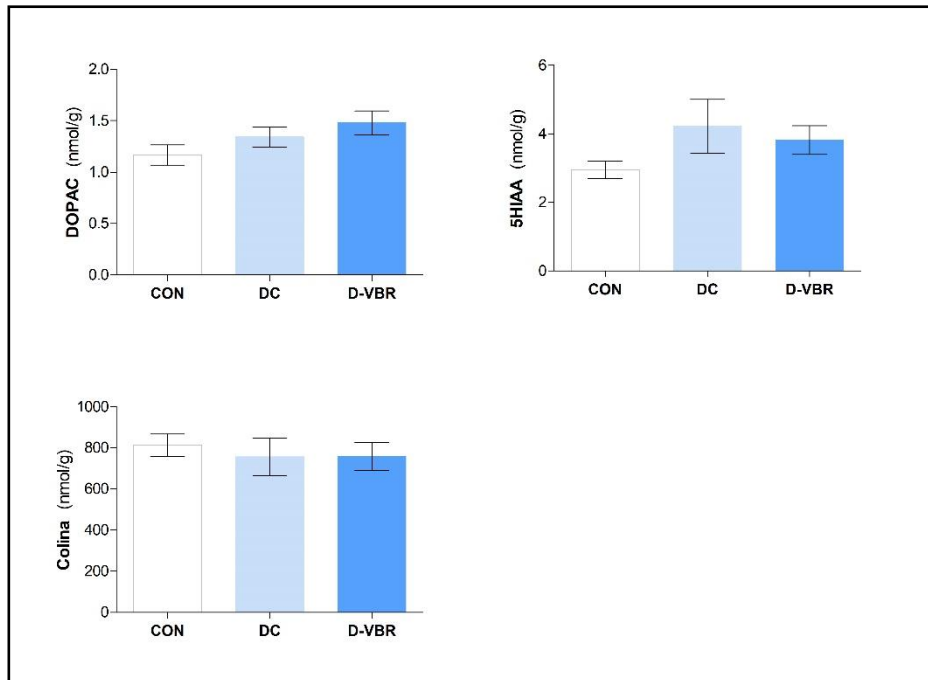
Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do PFC. GABA – ácido gama-aminobutírico; ACh – acetilcolina; DA – dopamina; 5-HT – serotonina; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. *** $p < 0,0001$ vs CON

Fonte: O autor, 2023.

De acordo com a análise estatística (ANOVA), na análise das concentrações de metabólitos (Figura 18), nenhuma diferença nos níveis corticais de DOPAC, Colina e 5HIAA pode ser observada nos ratos diabéticos em relação ao grupo controle. Adicionalmente, a partir desses dados, foi calculada a razão DOPAC/DA e 5HIAA/5-HT (Figura 19), utilizada

como medidas de *turnover* de dopamina e serotonina. Ao observar a razão DOPAC/DA, o exercício não indicou alteração dessa renovação, assim como da razão 5HIAA/5-HT quando comparado ao controle.

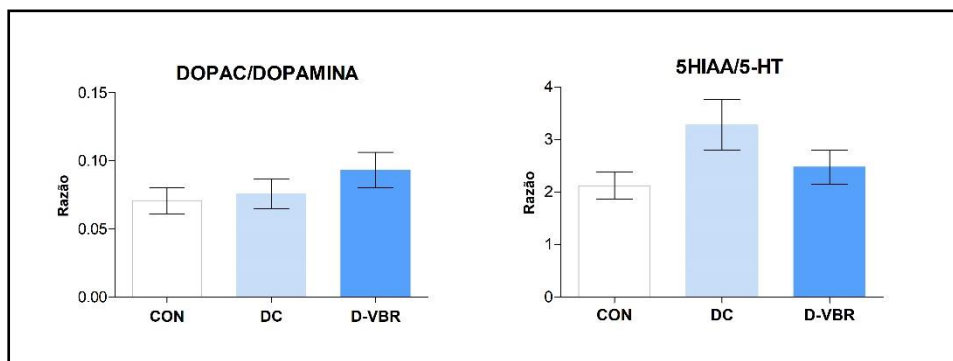
Figura 18 – Concentrações de metabolitos no córtex



Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do PFC. DOPAC – ácido diidrofenilacético; 5HIAA – ácido 5-hidroxi-indolacético; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA e teste *t*-Student (DC vs D-VBR).

Fonte: O autor, 2023.

Figura 19 – Razão DOPAC/dopamina e 5-HIAA/5-HT no córtex.



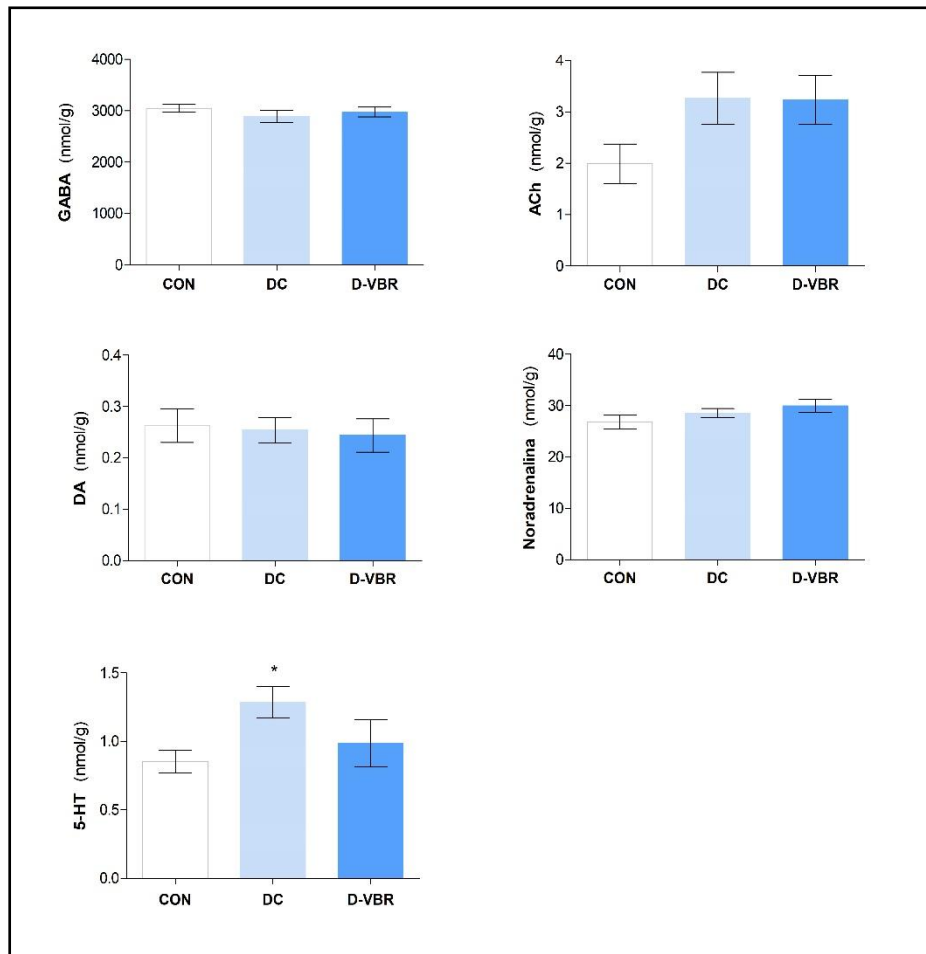
Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do PFC. DOPAC – ácido diidrofenilacético; 5HIAA – ácido 5-hidroxi-indolacético 5-HT – Serotonina; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA e teste *t*-Student (DC vs D-VBR).

Fonte: O autor, 2023.

3.2.5.2 Hipocampo

No hipocampo, os ratos diabéticos que não receberam o exercício apresentaram uma aumento ($t=3,0$, $df=10$, $p < 0,05$; Figura 20) nas concentrações de serotonina em comparado aos ratos saudáveis. Contudo, não foram observados nenhum efeito ou interações de outros neurotransmissores.

Figura 20 – Concentrações de neurotransmissores no hipocampo.



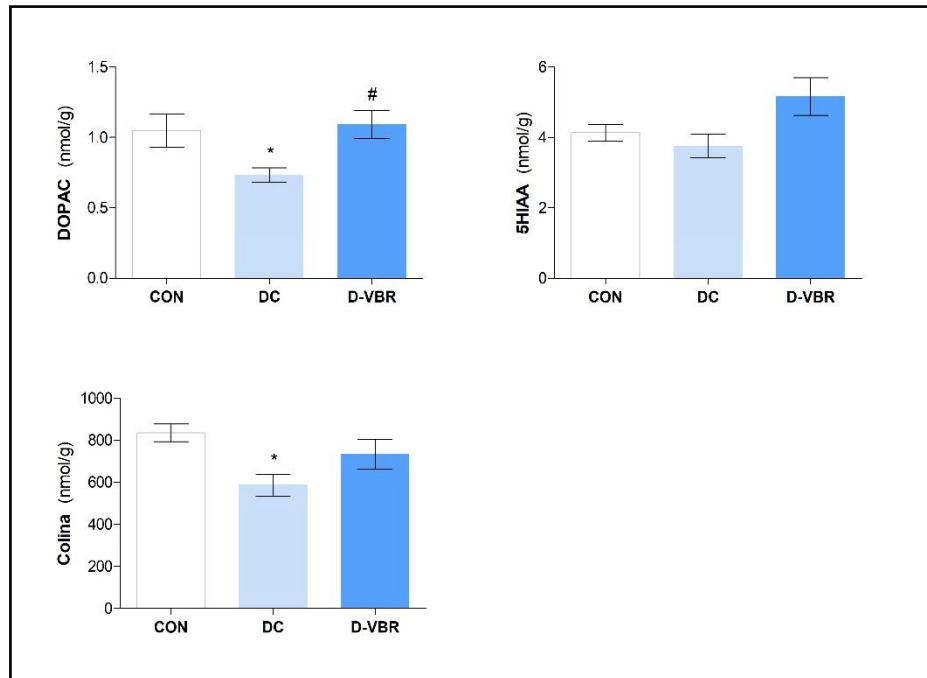
Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do hipocampo. GABA – ácido gama-aminobutírico; ACh – Acetilcolina; 5-HT – Serotonina; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA e teste *t*-Student (DC vs D-VBR), * $p < 0,05$ vs CON

Fonte: O autor, 2023.

Na análise das concentrações de metabólitos (Figura 21), de acordo com a ANOVA, no grupo DC houve diminuição nos níveis hipocampal de DOPAC ($F=4,1$, $df=2$, $p < 0,05$) e colina ($F=4,3$, $df=2$, $p < 0,05$) em comparação ao grupo controle. No entanto, o tratamento por EVCI (D-VBR) reverte a produção de DOPAC ($t=2,4$, $df=10$, $p < 0,05$). Adicionalmente,

também foi calculada a razão DOPAC/DA e 5HIAA/5-HT (Figura 22), e ao observar a razão 5HIAA/5-HT, é possível perceber uma diminuição no grupo DC em relação ao controle ($t=3,3$, $df=10$, $p < 0,05$).

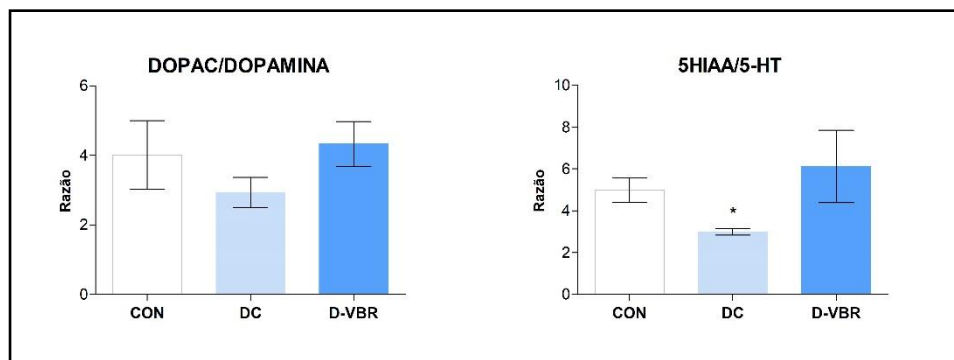
Figura 21 – Concentração de metabolitos no hipocampo.



Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do hipocampo. GABA – ácido gama-aminobutírico; ACh – Acetilcolina; 5-HT – Serotonina; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA e teste *t*-Student (DC vs D-VBR), * $p < 0,05$ vs CON; # $p < 0,05$ vs DC

Fonte: O autor, 2023.

Figura 22 – Razão DOPAC/dopamina e 5-HIAA/5-HT no hipocampo.



Legenda: Cromatografia de alta eficiência em tecido do hipocampo. GABA – ácido gama-aminobutírico; ACh – Acetilcolina; 5-HT – Serotonina; CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA e teste *t*-Student (DC vs D-VBR), * $p < 0,05$ vs CON

Fonte: O autor, 2023.

3.2.6 Consistência das fezes

A classificação da consistência das fezes seguindo a escala de Frederico ao longo das 5 semanas de tratamento foi a do tipo 2 (fezes normais), indicando nenhuma alteração na consistência das fezes foi em ratos animais saudáveis e diabéticos.

Tabela 4 - Análise da consistência das fezes de ratos saudáveis e diabéticos

Semana	CON	DC	D-VBR	<i>p</i>
1	2 ± 0,39	2 ± 0,47	2 ± 0,50	0,5350
2	2 ± 0,04	2 ± 0,29	2 ± 0,32	0,3083
3	2 ± 0,03	2 ± 0,16	2 ± 0,20	0,1630
4	2 ± 0	2 ± 0,11	2 ± 0,02	0,1152
5	2 ± 0	2 ± 0,07	2 ± 0,01	0,2368

Legenda: Consistência das fezes em ratos *Wistar*. CON – grupo controle (n=8); DC – grupo diabético controle (n=8); D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz (n=9); Valores são expressos em média ± E.P.M. Teste ANOVA.

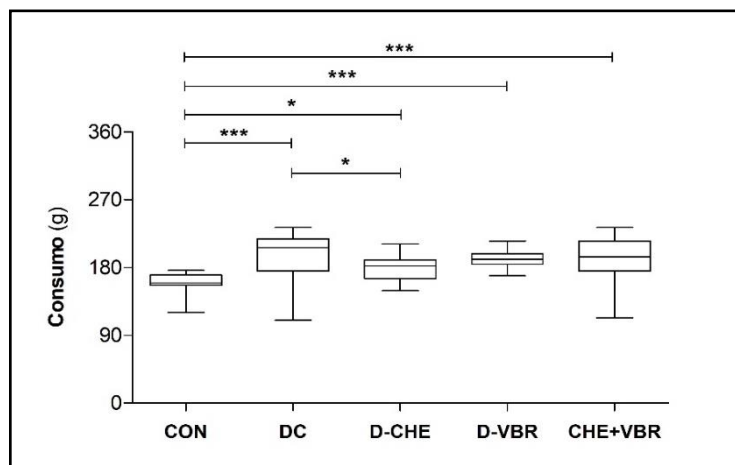
Fonte: O autor, 2023.

3.3 Etapa III

3.3.1 Consumo de ração

Conforme mostrado na Figura 23, observou-se que os animais diabéticos tiveram uma média de consumo maior do que os animais saudáveis ao longo de 5 semanas. O tratamento individual com mastruz reduziu o consumo de ração ($p < 0,05$) dos ratos diabéticos em comparado ao grupo DC. Além disso, houve um aumento significativo no consumo de ração nos grupos diabéticos (D-CHE, $p < 0,05$; DC, D-VBR, CHE+VBR, $p < 0,0001$) em relação ao controle.

Figura 23 – Consumo de ração em animais sadios e diabéticos durante 5 semanas.



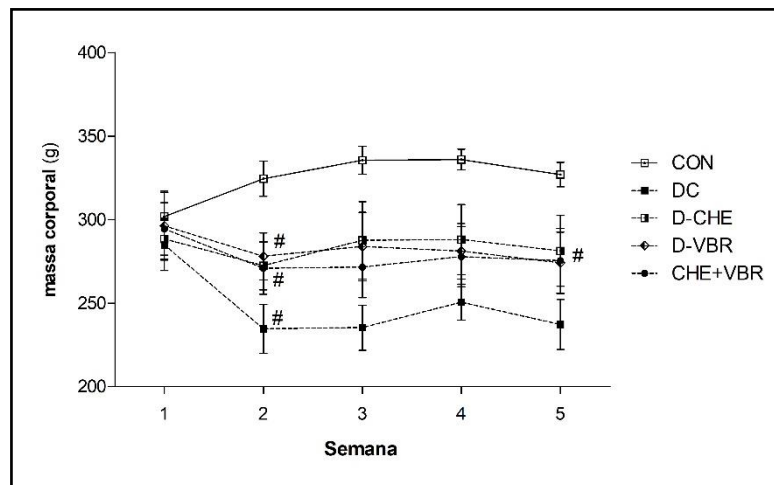
Legenda: CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado; Valores são expressos em mediana $\pm$ IQR, p -valor. Teste ANOVA, $*p<0,05$, $***p<0,0001$

Fonte: O autor, 2023.

3.3.2 Massa corporal e IMC

Os efeitos dos diferentes tratamentos na massa corporal de ratos diabéticos é mostrado na Figura 21. Na 2ª e 3ª semana, a massa corporal dos animais do grupo DC (2ª semana, $234,4 \pm 14,62$; 3ª semana, $235,3 \pm 13,41$) diminuiu significativamente ($p<0,01$) em relação aos animais sadios (2ª sem., $234,4 \pm 10,50$; 3ª sem., $335,6 \pm 8,32$), no entanto, não foram observadas diferenças nos grupos D-CHE, D-VBR, CHE+VBR. Adicionalmente, durante as 5 semanas, o tratamento individual por mastruz (D-CHE, $283,6 \pm 3,08$) e EVCI (D-VBR, $282,7 \pm 3,76$) reverteram significativamente a perda de massa ($p<0,01$) nos ratos diabéticos (Fig. 24). Da mesma forma, o tratamento combinado (CHE+VBR, $278 \pm 4,29$) regulou a perda de massa nos ratos diabéticos com 5 semanas ($p<0,05$). Nenhuma diferença estatística foi encontrada quando comparado o tratamento combinado e o individual ($p=0,5487$).

Figura 24 – Massa corporal de animais saudáveis e diabéticos durante 5 semanas.

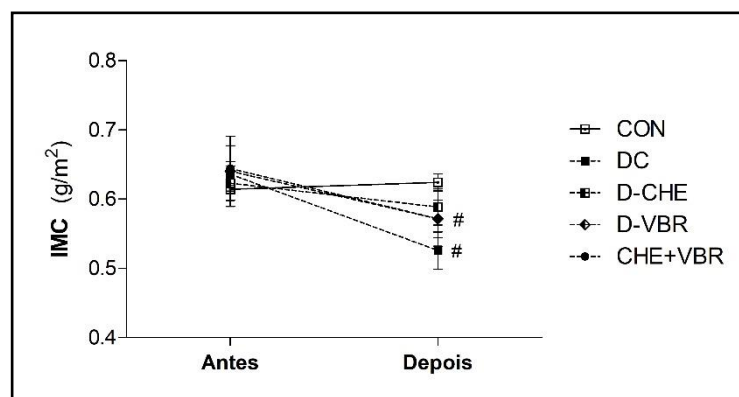


Legenda: CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado; Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA de repetição $^{\#}p<0,0001$ CON vs DC, D-CHE, D-VBR, CHE+VBR; $^{\#}p<0,01$ DC vs D-CHE, D-VBR, CHE+VBR.

Fonte: O autor, 2023.

A análise do IMC foi realizada antes e após as intervenções, conforme mostra a Figura 22. Após 5 semanas de tratamento, o IMC dos animais diabéticos do grupo CHE+VBR ($0,64\pm0,03$ [antes], $0,57\pm0,02$ [após]) e do grupo DC ($0,63\pm0,01$ [antes], $0,52\pm0,02$ [após]) tiveram uma redução significativa (CHE+VBR, $p=0,0143$; DC, $p=0,0115$). Nenhuma diferença foi observada nos demais grupos (CON, $0,61\pm0,02$ [antes], $0,63\pm0,01$ [após]); D-CHE, $0,62\pm0,02$ [antes], $0,58\pm0,02$ [após]; D-VBR, $0,64\pm0,05$ [antes], $0,57\pm0,03$ [após])

Figura 25 – Índice de massa corporal de ratos saudáveis e diabéticos.



Legenda: Análise do IMC realizada antes (dia 0) e depois (dia 45) das intervenções. CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado; Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste *t*-Student pareado, $^{\#}p<0,05$ antes vs após.

Fonte: O Autor, 2023

3.3.3 Análise Bioquímica

Após 5 semanas de tratamento a análise bioquímica confirmou um aumento significativo ($p<0,01$) nos níveis séricos de glicose em ratos diabéticos (DC, D-CHE, D-VBR e CHE+VBR) quando comparado com ratos saudáveis (Tabela 5). Assim como, o aumento dos níveis de glicose média estimada ($p<0,0001$) e porcentagem de hemoglobina glicada ($p<0,0001$) em ratos diabéticos dos grupos DC e CHE+VBR. Além disso, foi observado nos ratos diabéticos do grupo DC um aumento nos níveis de HDL ($p<0,0001$), ureia ($p<0,01$), cálcio e colesterol ($p<0,05$) em relação ao controle. Adicionalmente, o tratamento individual por mastruz e o tratamento combinado (CHE+VBR) reverteram ($p<0,01$) os níveis de HDL nos ratos diabéticos. Contudo, em comparação com o grupo DC, os níveis de ureia também foram aumentados ($p<0,01$) nos grupos D-CHE e CHE+VBR, bem como os níveis de colesterol que foram aumentados ($p<0,05$) no tratamento por EVCI.

Tabela 5 – Concentração sanguínea de biomarcadores com 5 semanas nos animais submetidos aos diferentes tratamentos (continua)

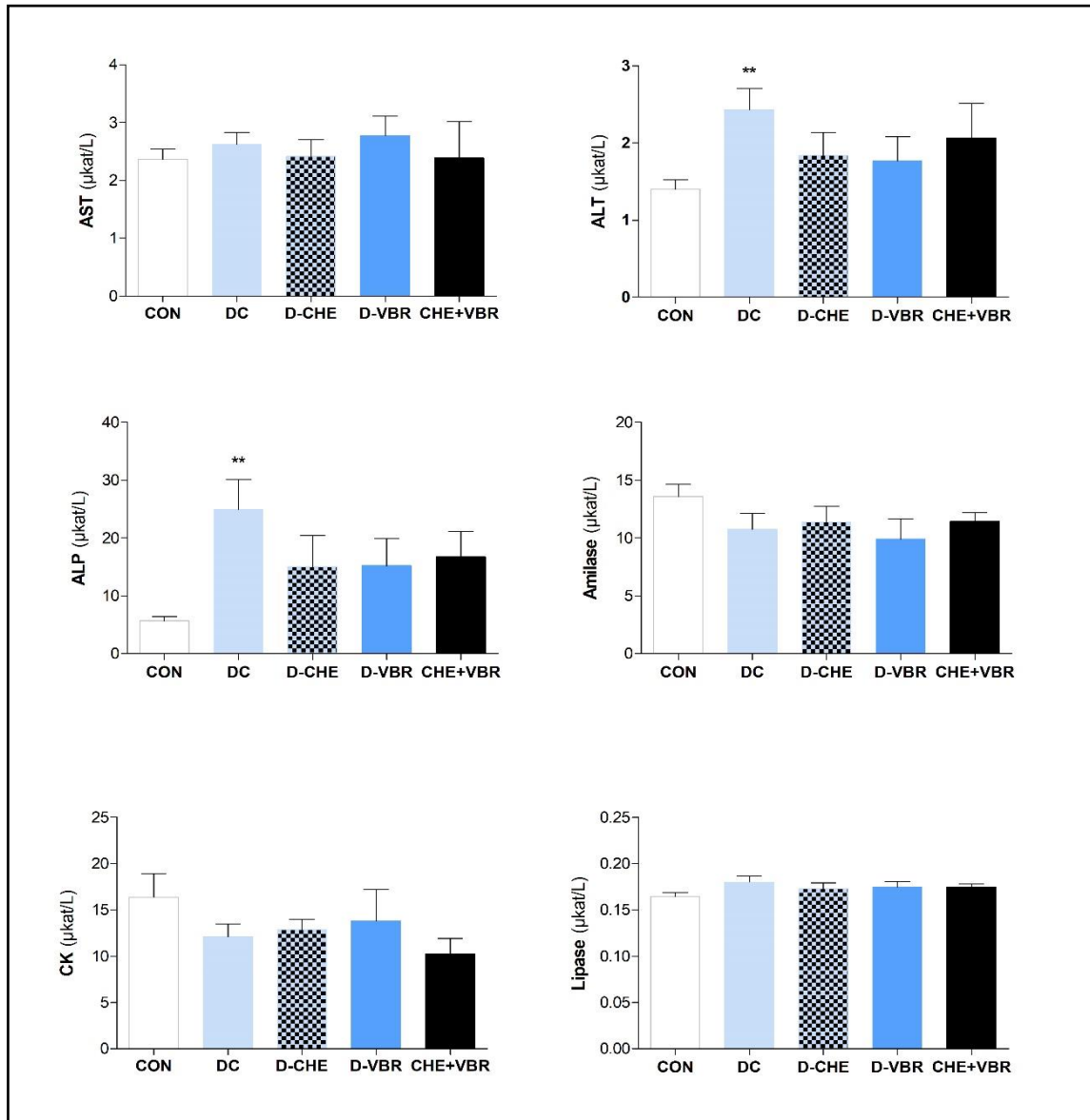
Biomarcadores	CON	DC	D-CHE	D-VBR	CHE+VBR	p
Glicose (mmol/L)	13,91 ± 1,17	29,86 ± 6,66**	25,39 ± 8,07*	27,55 ± 10,53*	27,81 ± 7,52**	0,0076
GME (mmol/L)	3,54 ± 0,19	9,35 ± 1,68**	6,05 ± 3,46	7,86 ± 3,47	8,26 ± 2,79*	0,0086
HbA1c (%)	3,85 ± 0,12	7,46 ± 1,53**	5,4 ± 2,15	6,52 ± 2,16	6,78 ± 1,74*	0,0084
Compostos nitrogenados						
Creatinina (μmol/L)	43,32 ± 3,54	52,16 ± 8,84*	53,92 ± 7,96**	54,81 ± 12,38*	57,26 ± 12,38*	0,0639
Ureia (mmol/L)	7,32 ± 0,07	22 ± 9,61**	14,2 ± 5,3**	15,9 ± 7,06**	19,07 ± 8,54**	0,0062
Proteínas						
Proteína total (g/L)	62,9 ± 3,4	62,1 ± 3,9	61,3 ± 4,2	62,4 ± 3	60,6 ± 2,7	0,7464
Albumina (g/L)	37,9 ± 1,1	35 ± 3,4	35,9 ± 3,4	34,3 ± 3	35 ± 2,4	0,1441
Globulina (g/L)	25 ± 3,9	27,1 ± 3	25,4 ± 4,3	28,1 ± 3,2	25,6 ± 2,7	0,4085
Lipídios						
Triglicerídeos (mmol/L)	0,32 ± 0,09	0,68 ± 0,21*	0,59 ± 0,74	0,59 ± 0,28	0,55 ± 0,26	0,0479
Colesterol (mmol/L)	0,95 ± 0,12	1,30 ± 0,26*	1,13 ± 0,37	1,29 ± 0,31*	1,05 ± 0,15	0,0167
HDL (mmol/L)	0,41 ± 0,03	0,63 ± 0,11 [#]	0,51 ± 0,08 ^a	0,57 ± 0,13*	0,52 ± 0,08 ^a	0,0018
LDL (mmol/L)	0,37 ± 0,10	0,29 ± 0,05	0,35 ± 0,15	0,37 ± 0,13	0,27 ± 0,10	0,4757
VLDL (mmol/L)	0,14 ± 0,05	0,30 ± 0,11	0,34 ± 0,24	0,26 ± 0,14	0,28 ± 0,15	0,2724
Minerais						
Cálcio (mmol/L)	2,52 ± 0,11	2,69 ± 0,10*	2,62 ± 0,1	2,52 ± 0,1	2,59 ± 0,09	0,0271
Magnésio (mmol/L)	1,19 ± 0,09	1,31 ± 0,15	1,23 ± 0,1	1,19 ± 0,08	1,22 ± 0,16	0,3439

Nota: Determinação bioquímica do soro sanguíneo de ratos saudáveis e diabéticos. CON – grupo controle; CHE – grupo tratado com mastruz; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado; GME – glicose média estimada; HbA1c – hemoglobina glicada; HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – lipoproteína de baixa densidade; VLDL – lipoproteína de densidade muito baixa. Valores são expressos em média ± DP. Teste ANOVA, * $p < 0,05$ vs CON, ** $p < 0,01$ vs CON, [#] $p < 0,0001$ vs CON, ^a $p < 0,01$ vs DC.

Fonte: O autor, 2023.

Conforme observado na Figura 21, após 5 semanas de tratamento observou-se no soro sanguíneo de ratos diabéticos (DC) um aumento significativo nos níveis enzimáticos de ALT ($p < 0,05$) e ALP em comparação com o grupo controle. Porém, nos ratos que receberam os tratamentos (individuais e combinado) nenhuma diferença estatística foi observada.

Figura 26 – Enzimas determinadas em animais sadios e diabéticos



Legenda: Enzimas séricas determinadas em ratos sadios e diabéticos. CON – grupo controle; CHE – grupo tratado com mastruz; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado; HDL – lipoproteína de alta densidade; LDL – lipoproteína de baixa densidade; VLDL – lipoproteína de densidade muito baixa. Valores são expressos em média ± E.P.M. Teste ANOVA, * $p < 0,05$ vs CON, ** $p < 0,01$ vs CON, # $p < 0,0001$ vs CON.

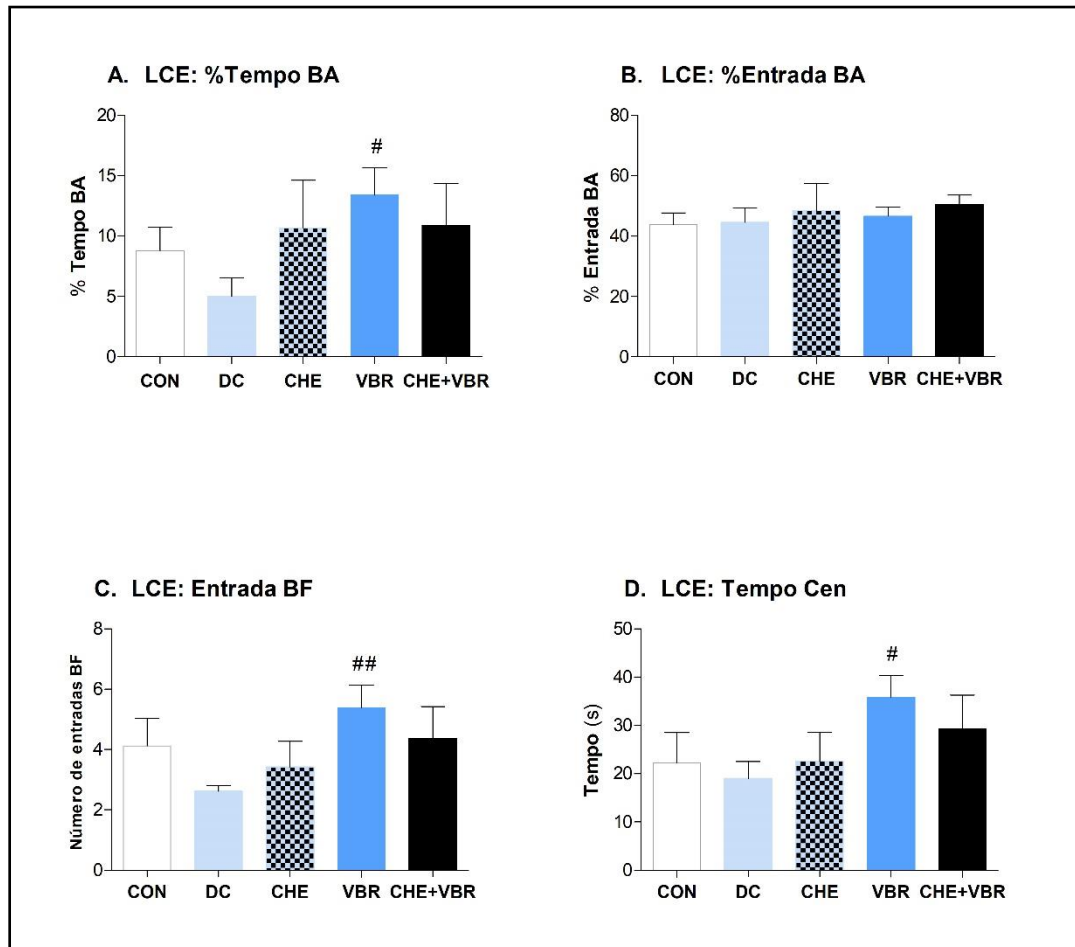
Fonte: O autor, 2023.

3.3.4 Testes de comportamento

3.3.4.1 Teste do labirinto em cruz elevado

Com base nas medidas utilizadas para avaliar comportamento associado a ansiedade no LCE (%Tempo BA e %Entrada BA, Figura 27 A-B), o exercício aumentou o tempo de permanência dos ratos diabéticos nos braços abertos em relação ao grupo DC ($t=2,9$, $df=13$, $p<0,05$; Figura 27 A). Ademais, os animais expostos ao EVCI apresentaram aumento da atividade locomotora (Entrada BF: $t=3,5$, $df=14$, $p<0,01$; Figura 27 C) e aumento no tempo no centro do aparelho ($F=2,9$, $df=13$, $p<0,05$; Figura 27 D).

Figura 27 – Efeitos do tratamento no teste do labirinto em cruz elevado



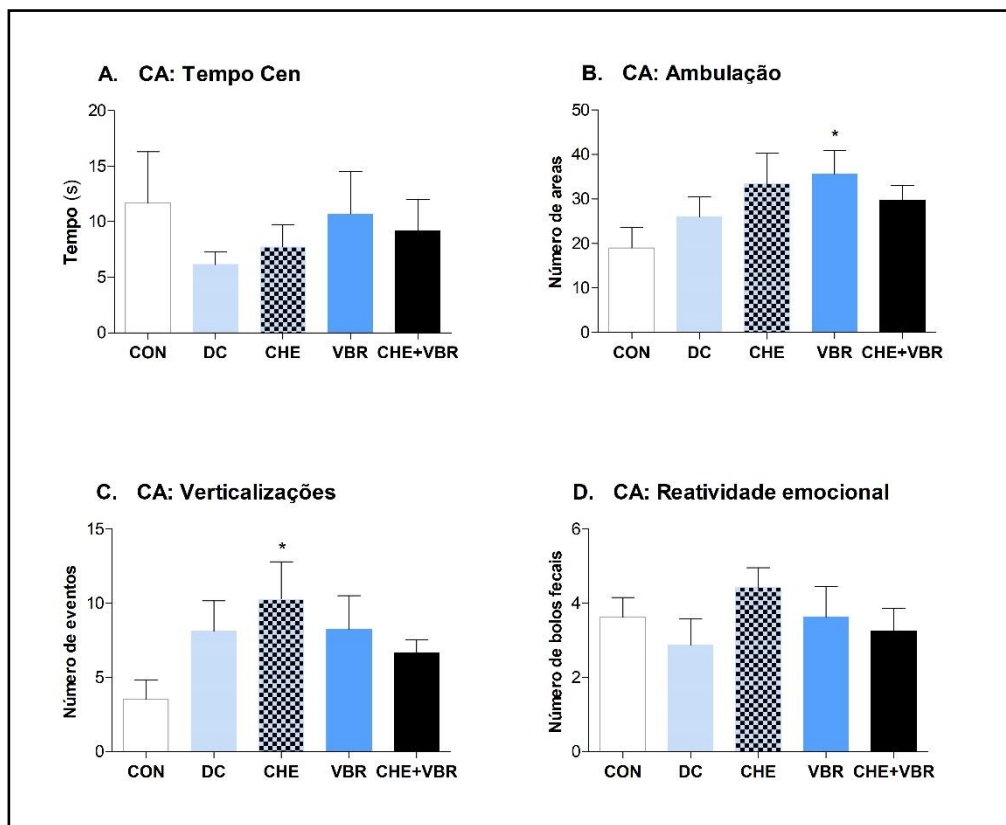
Legenda: Teste do labirinto em cruz elevado. (A) %Tempo BA – percentual de tempo nos braços aberto; (B) %Entrada BA – percentual de entrada em braços abertos; (C) Entrada BF – percentual de entrada em braços fechados; (D) Tempo Cen – tempo no centro; CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado. Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA, [#] $p < 0,05$ vs DC; ^{##} $p < 0,01$ vs DC

Fonte: O autor, 2023.

3.3.4.2 Teste do campo aberto

Os diferentes tratamentos, neste teste, não foram capazes de afetar o tempo de permanência no centro do equipamento (Figura 28 A). Contudo, o tratamento por EVCI aumentou a ambulação total ($t=2,3$, $df=14$, $p < 0,05$; Figura 28 B), enquanto o tratamento por mastruz aumentou o comportamento exploratório avaliado pela atividade vertical ($t=2,4$, $df=13$, $p < 0,05$; Figura 28 C). Ademais, nenhuma alteração foi observada na avaliação da formação de bolos fecais durante o teste (Figura 28 D).

Figura 28 – Efeitos do tratamento no teste do campo aberto



Legenda: Teste do Campo Aberto. CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado. Valores são expressos em média $\pm$ E.P.M. Teste ANOVA, * $p < 0,05$ vs CON

Fonte: O autor, 2023.

3.3.5 Consistência das fezes

Conforme mostrado na tabela 6, o tipo de consistência das fezes classificado seguindo a escala de Frederico ao longo das 5 semanas de tratamento foi o tipo 2 (fezes normais). Contudo, nenhuma alteração na consistência das fezes foi observada nos animais saudáveis e diabéticos.

Tabela 6 - Análise da consistência das fezes de ratos sadios e diabéticos seguindo a escala adaptada para ratos de Frederico et al., 2017

Semana	CON	DC	D-CHE	D-WBV	CHE+WBV	<i>p</i>
1	2 ± 0,37	2 ± 0,42	2 ± 0,47	2 ± 0,47	2 ± 0,49	0,6835
2	2 ± 0,03	2 ± 0,32	2 ± 0,38	2 ± 0,58	2 ± 0,34	0,3285
3	2 ± 0	2 ± 0,16	2 ± 0,20	2 ± 0,09	2 ± 0,24	0,1379
4	2 ± 0	2 ± 0,13	2 ± 0,01	2 ± 0,06	2 ± 0,08	0,1050
5	2 ± 0	2 ± 0,06	2 ± 0	2 ± 0,02	2 ± 0,03	0,2218

Legenda: Consistência das fezes em ratos *Wistar*. CON – grupo controle; DC – grupo diabético controle; D-CHE – grupo diabético tratado com mastruz; D-VBR – grupo diabético exposto a VM 50Hz; CHE+VBR – grupo diabético exposto ao tratamento combinado. Valores são expressos em média ± E.P.M. Teste ANOVA.

Fonte: O autor, 2023.

3.4 Revisão sistemática

Verificar ANEXO A.

4 DISCUSSÃO

Estudos pré-clínicos envolvendo a associação de substâncias naturais e o EVCI em animais saudáveis (Naghii et al., 2012, Cardoso et al., 2017, Frederico et al., 2017) e em animais diabéticos (Cardoso et al., 2019) tem estimulado a nossa investigação. O presente estudo, ao longo de 5 semanas avaliou em modelo animal para DMT1 o efeito do tratamento individual de mastruz e EVCI, e o seu tratamento combinado, segundo parâmetros funcionais, fisiológicos e comportamentais. Os resultados das etapas experimentais realizadas neste estudo indicaram um aumento significativo do consumo de ração em ratos diabéticos durante a investigação, porém uma diminuição da massa corporal e estado nutricional dos animais. A análise bioquímica confirmou o estado diabético dos animais com o aumento significativo dos níveis de glicose, GME e HbA1c. Verificou-se também em ratos diabéticos aumento dos níveis séricos de lipídeos, minerais e alguns compostos nitrogenados selecionados.

Além disso, no presente estudo foram observadas alterações nas concentrações de enzimas séricas, de neurotransmissor e metabólitos cerebrais dos animais diabéticos, bem como nos parâmetros comportamentais tais como atividade locomotora e exploratória, tomada de decisão e comportamento relacionado à ansiedade. Ademais, foi observado nos animais diabéticos um aumento na biodisponibilidade de pertecnetato de sódio em diferentes órgãos. Adicionalmente em revisão sistemática da literatura, foram observados em estudos com modelos animais, efeitos benéficos da intervenção por EVCI no desempenho motor, força isométrica, coordenação, força muscular, controle comportamental, plasticidade neuronal e função sináptica.

4.1 Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, na função alimentar e consistência das fezes em ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)

O consumo de ração foi analisado diariamente ao longo de 5 semanas, observou-se que os animais diabéticos tiveram um aumento no consumo alimentar em relação aos animais saudáveis. Este aumento pode ser indicado pela condição polifágica (aumento da ingestão de alimento) observada em ratos induzidos por ALX (Rajagopal & Sasikala, 2008; De Carvalho et al 2016). Tal sintoma é bem reportado na literatura (Atkinson & Eisenbarth, 2014; Pasi &

Ravi, 2022), e no DMT1 normalmente ele é ocasionado pela descompensação do diabetes (taxas altas de açúcar) que leva ao aumento do consumo, atitude compensatória à perda de energia (p.ex. na forma de glicose) na urina, denominado glicosúria (Carpentier et al., 2019).

No presente estudo, foi observado uma redução no consumo de ração pelos ratos diabéticos tratados com mastruz, o que sugere um efeito do extrato na condição polifágica citada acima. Alguns estudos têm demonstrado o efeito do mastruz na diminuição do consumo alimentar em roedores (Cardoso et al., 2017; Zambou et al., 2022) e cordeiros (Kato et al., 2000), contudo este é o primeiro estudo a evidenciar este efeito do mastruz em ratos induzidos por ALX. Essa redução pode ser explicada pelo fato de *Chenopodium ambrosioides* possuir moléculas bioativas como o ascaridol e o óxido de cariofileno que lhe conferem uma atividade de inibição da cadeia respiratória em células e mitocôndrias de mamíferos (Gille et al., 2010), levando a redução na ingestão de alimentos. Por sua vez, o tratamento por EVCI e o tratamento combinado mantiveram os mesmos níveis de aumento do consumo alimentar vistos no grupo diabético controle.

Com base na atividade observada nos ratos tratados com mastruz, esperava-se uma alteração também no tratamento combinado, no entanto, não houve diminuição no consumo. Isso sugere um possível efeito oposto entre os agentes (mastruz e EVCI). É bem evidenciado que o EVCI potencializa o consumo de ração em ratos saudáveis (Cardoso et al., 2017; Frederico et al., 2017; Cardoso et al., 2020), e em modelo animal para DMT1 foi evidenciado níveis similares de consumo entre grupo controle e tratado por EVCI (Cardoso et al., 2019). Segundo Wang e Kerrick (2002), a aplicação de vibrações de comprimento sinusoidal em fibras isoladas ou intactas promove aumentos específicos na captação de ATP por células do tecido musculo-esquelético. Durante o exercício, as células musculares utilizam ATP como moeda energética para produzir energia mecânica (Pauli et al., 2009; Dunn & Grider, 2022), isso sugere que o aumento no consumo pode ser estimulado pela realização do EVCI. Contudo o fato de no diabetes induzido o animais que realizaram o EVCI terem tido níveis similares de consumo ao grupo controle pode ser justificado pela alta disponibilidade de açúcar no sangue que facilita o transporte de glicose por difusão facilitada via proteína de transportadora de glicose (GLUT-4) (Sherman et al., 1993; Sato et al., 2017).

É conhecida a ocorrência de complicações gastrointestinais no DMT1 (Lodefalk & Åman, 2010; Rodrigues & Motta, 2012), entre eles alguns sintomas são observados nas fezes (Hara et al., 2013). Em estudo anterior do nosso grupo, foi avaliado o efeito crônico do tratamento individual e combinado de mastruz e EVCI (*f*: 50 Hz) em ratos saudáveis e foi observada uma consistência normal das fezes (Cardoso et al., 2017). O presente estudo não

indicou alteração na consistência das fezes dos animais diabéticos, sendo também classificada como normal durante o experimento. Cardoso et al., (2019) avaliaram o efeito do tratamento individual com coentro e combinado com EVCI (f : 50 Hz) em ratos diabéticos e não observaram alterações na consistência das fezes. Contudo, Frederico et al., (2017) aplicaram o mesmo protocolo com coentro e combinado com EVCI (f : 50 Hz) em ratos saudáveis e observaram alterações na consistência das fezes dos animais que receberam o tratamento individual com o extrato, tendo uma característica dura e mais escura.

4.2 Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, em parâmetros murinométricos de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)

Um dos sintomas mais evidentes no DMT1 é a perda de massa corporal involuntária (Wang et al., 2022). Tal perda é um dos principais indícios da descompensação do diabetes em indivíduos com DMT1 (Danne et al., 2008; Scavone et al., 2010). No presente estudo, observou-se em ratos diabéticos uma perda progressiva de massa ao longo das 5 semanas de tratamento, de forma acentuada nas semanas iniciais. Contudo, os tratamentos conseguiram reverter a perda de massa. De fato, os nossos achados corroboram com o aumento do consumo observado nos ratos diabéticos, sugerindo que a disfunção metabólica gerada pelo quadro de hiperglicemia nos animais, leva-os a uma condição polifágica, que por sua vez leva o organismo a utilizar outras fontes (p. ex. reservas de gordura, proteínas) como compensação, levando a perda de massa não intencional (El-Mesallamy et al., 2018)

A intervenção por EVCI regulou a perda de massa corporal nos ratos diabéticos reforçando um potencial ação do exercício no manejo da disfunção metabólica citada acima. Jacob et al., (2006) reportaram que a atividade física é uma das causas potenciais para ganho de peso no DMT1. Neste estudo, o nível de exercício ao longo do experimento foi controlado diariamente e com tempo de descanso entre sessões, isso sugere que o exercício controlado poderia ajudar no manejo da perda de massa involuntária preservando massa magra (Mottalib et al., 2017).

Por sua vez, o tratamento com mastruz também regulou a perda de massa no protocolo de 5 semanas, e assim como o exercício evita a perda de massa não intencional observada nos ratos diabéticos não tratados. Os resultados demonstrados pelo mastruz na redução do consumo, da massa corporal e qualidade da consistência das fezes dos ratos, reforçam seu

papel de atuação no manejo de sintomas que podem ser ocasionados pelo quadro de hiperglicemia. Da mesma forma, o tratamento combinado regulou a perda de massa, corroborando com os desfechos reportados pelo uso destes agentes quando utilizados individualmente.

Além disso, para verificar o estado nutricional dos animais, outro parâmetro murinométrico avaliado foi o IMC. Os resultados da análise feita antes e depois do estudo nos ratos submetidos aos diferentes tratamentos mostrou-se pouco sensível as variações nos ratos diabéticos, no entanto, confirma a diferença de estado nutricional entre animais saudáveis e diabéticos (Nunes et al., 2009).

4.3 Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, nas alterações comportamentais de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas II e III)

O Labirinto em Cruz Elevado foi o modelo de teste *in vivo* utilizado para avaliar os níveis de ansiedade nos ratos submetidos aos diferentes tratamentos. De forma geral, neste teste os animais mostram preferência pelas partes fechadas e protegidas pelas paredes do aparelho, e são mais aversivos às áreas abertas do labirinto (Carobrez & Bertoglio, 2005). O presente trabalho demonstrou que nos ratos diabéticos induzidos por ALX (grupo DC) não houve característica ansiogênica. Contudo, nos ratos diabéticos submetidos ao ECVI (D-VBR) observamos um aumento no tempo de permanência nos braços abertos e um aumento no tempo no centro do aparelho, variáveis associadas à ansiedade e à capacidade exploratória (Carobrez & Bertoglio, 2005), além do aumento da atividade locomotora, sugerindo um efeito ansiolítico do exercício. Outros estudos evidenciaram aumento da atividade locomotora e redução dos níveis de ansiedade associado ao treinamento físico tanto em animais saudáveis (Fulk et al., 2004; Barbosa et al., 2016; Seo, 2018) quanto em diabéticos (Caliskan et al., 2019; Mohammadi & Zare, 2020). Por sua vez, não observamos efeitos do tratamento oral com mastruz e tratamento combinado nas variáveis associadas à ansiedade, apesar da característica ansiogênica ser menos evidente nos ratos que receberam estes tratamentos. Esta ausência de resultado, pode ser explicada pelo estado diabético crônico do animal e como ele influencia a absorção do extrato no longo prazo. Contudo, estudos anteriores confirmam o potencial ansiolítico do tratamento com mastruz em camundongos submetidos ao mesmo teste

(Bum et al., 2011), bem como a ação ansiolítica de compostos bioativos presentes no mastruz, como os flavonoides (Patil et al., 2003; Fernandez et al., 2009; Bezbaruah et al., 2020).

O teste do campo aberto foi realizado para avaliar o comportamento de atividade locomotora e exploratória dos animais nas condições experimentais deste estudo. A ansiedade é uma das complicações psicológicas que estão associadas ao DMT1 (Rechenberg et al., 2017), portanto na análise comportamental de roedores, tal condição pode ser avaliada através da exposição a condições ambientais aversivas. É bem evidenciado que roedores possuem uma tendência natural de maior sensação de segurança a ambientes fechados e escuros, mas uma aversão a espaços abertos (Sestakova et al., 2013). No presente ensaio, o comportamento relacionado à ansiedade pode ser medido pelo grau em que os animais evitam o centro do equipamento, permanecendo próximo às paredes do aparato. Por sua vez o aumento da atividade central indica baixos níveis de ansiedade e alto comportamento exploratório (Kraeuter et al., 2019)

Os resultados deste trabalho mostraram que o tempo de permanência no centro do aparato pelos animais diabéticos foi menor que nos animais saudáveis, indicando uma característica exploratória reduzida e sugestiva de comportamento ansiogênico, corroborando com achados de estudos anteriores (De Senna et al, 2011; Kraeuter et al., 2019). Entretanto, a exposição ao EVCI aumentou a ambulação total dos ratos diabéticos e diminuiu a reatividade emocional com base no número de bolos fecais formados durante a realização do teste, indicando que o exercício reverte o efeito ansiogênico e potencializa a atividade motora do animal diabético, o que corrobora com os resultados descritos no teste de Labirinto em Cruz Elevado, reforçando a hipótese de que a intervenção por EVCI potencializa a atividade motora nos ratos diabéticos.

Adicionalmente, o tratamento com mastruz aumentou o comportamento exploratório avaliado pela atividade vertical dos animais no aparato, contrastando com desfecho da atividade exploratória observada no teste do labirinto. Estudos relacionados a ação do extrato de mastruz na atividade locomotora utilizando o teste de campo aberto ainda são limitados (Dougnon & Ito, 2020). Portanto, este achado é relevante tendo em vista que na literatura não existem evidências do tratamento com *C. ambrosioides* em ratos diabéticos em avaliação comportamental por meio do teste de campo aberto. Ademais, nenhuma alteração foi observada nos ratos diabéticos que receberam o tratamento combinado.

4.4 Efeitos dos tratamentos, individuais ou combinado, nas alterações bioquímicas de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapas I, II e III)

As alterações bioquímicas decorrentes da descompensação do diabetes tem sido investigadas para auxiliar no diagnóstico e manejo da doença (Ho et al., 2022). A ALX induz a DMT1 através da sua ação citotóxica nas células β , resultando em uma diminuição endógena da liberação de insulina no pâncreas (Rajagopal & Sasikala, 2008; De Carvalho et al 2016). Essa alteração é uma característica importante do DMT1 induzido, e por um curto período de tempo leva a descompensação (hiperglicemia), e portanto, a disfunção metabólica.

No presente trabalho, a análise bioquímica confirmou a hiperglicemia nos ratos diabéticos, com base no aumento dos níveis séricos de glicose, GME e porcentagem de HbA1c, biomarcadores principais no diagnóstico dessa característica. Ademais, foi observado também nos ratos diabéticos (grupo DC) o aumento dos níveis séricos de lipídios tais como triglicerídeos e colesterol, e lipoproteína (HDL). Além da hiperglicemia, a dislipidemia também é uma característica da DM (Mona et al., 2015). A elevação da concentração de lipídios no DM é associada ao aumento na mobilização de ácidos graxos livres dos depósitos periféricos de gordura, pois a deficiência na produção de insulina impede a inibição da lipase hormônio-sensível (LHS) (Coelho et al., 2011; Lucchesi et al., 2015), enzima que promove a conversão de ácidos graxos em lipídeos e lipoproteínas, e os libera no sangue (Lucchesi et al., 2015).

Entretanto, o tratamento individual com extrato de mastruz regulou o níveis séricos de triglicerídeos nos ratos diabéticos, assim como o tratamento combinado regulou os níveis de HDL, ambos em relação aos observados no grupo DC. Além disso, os ratos que só receberam o extrato de mastruz (D-CHE) tiveram a menor média de GME e %HbA1c entre os grupos diabéticos, estes achados sugerem que o tratamento crônico com mastruz apresenta potencial regulatório no manejo da dislipidemia e hiperglicemia em ratos induzidos por ALX. Em estudo anterior, Rajagopal e Sasikala, (2008) demonstraram também em ratos diabéticos induzidos por ALX efeitos anti-hiperglicêmico e antidislipidêmico do extrato de flor de *Nymphaea stellata*.

Além disso, os níveis séricos de creatinina, ureia, cálcio e magnésio foram aumentados nos ratos diabéticos não tratados. A indução por ALX tem demonstrado que a hiperglicemia plasmática corrobora com o aumento nos níveis de marcadores de dano renal tais como creatinina plasmática e nitrogênio ureico (Das & Sil, 2012; Preetha et al., 2015;

Radenkovic et al., 2016). Além disso, o aumento de minerais no grupo DC pode estar associado a descompensação do diabetes (Wongdee et al., 2017), embora este resultado não foi observado nos ratos diabéticos que receberam os diferentes tratamentos. Contudo, nos animais que receberam o tratamento por EVCI e o tratamento combinado, os níveis de creatinina, ureia e cálcio também se mantiveram elevados. Com 5 semanas de estudo, no tratamento por EVCI os níveis séricos de lipídeos, minerais e compostos nitrogenados selecionados foram similares aos do grupo DC. Com base nesses achados, o protocolo de EVCI adotado neste estudo não foi capaz de regular o aumento sérico dos marcadores citados acima.

Também foi determinada a concentração de algumas enzimas séricas nos animais submetidos aos diferentes tratamentos. Nos ratos diabéticos observou-se um aumento nos níveis de ALT, ALP e lipase, e uma diminuição da concentração de amilase. Níveis elevados de ALP foram observados anteriormente em ratos diabéticos induzidos (Ravikumar et al., 2010) e alterações na sua atividade podem indicar dano no fígado. O efeito adverso da ALX promove a migração de ALT, marcador da função hepática, do fígado para a circulação (Kala et al., 2012). Nossos achados corroboram com estudos anteriores que também observaram o aumento destas enzimas em ratos induzidos por ALX (Kala et al., 2012; Preetha et al., 2015; Lucchesi et al., 2015). A lipase é um importante biomarcador da função pancreática exócrina (Sherif et al., 2020), logo o seu aumento está associado com o a deficiência na produção de insulina causada pela ALX. Enquanto os níveis reduzidos de amilase sérica estão associados ao risco aumentado de síndrome metabólica e diabetes (Muneyuki et al., 2012). Contudo, os diferentes tratamentos não foram capazes de regular os níveis séricos destas enzimas nos animais diabéticos.

4.5 Efeito do tratamento individual por EVCI, sobre as alterações neuroquímicas de ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapa II)

A análise neuroquímica revelou que os ratos diabéticos não tratados apresentaram um aumento na concentração de serotonina (5-HT) no hipocampo. Além disso, observou-se uma diminuição dos níveis hipocampal de DOPAC, colina, e da razão 5HIAA/5-HT. O aumento dos níveis hipocampais de 5-HT nos animais diabéticos é consistente com achados reportados na literatura em ratos induzidos por ALX e STZ (Baranov et al., 1980-Lin et al., 2018). Este

achado sugere a importância do mecanismo de feedback entre os distúrbios metabólicos decorrentes da insuficiência de insulina e as alterações no nível de 5-HT no hipotálamo (Das et al., 2011). Ademais, a redução no *turnover* de 5-HT nos ratos diabéticos não tratados, bem como da metabolização de Colina e DOPAC indicam que a disfunção metabólica no animal pode ser a consequência de uma declínio na síntese, utilização e metabolismo de neurotransmissores no hipocampo.

4.6 Efeito do tratamento individual por mastruz, sobre a alteração na biodistribuição de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ em ratos sadios e ratos diabéticos induzidos por ALX (Etapa I)

O desequilíbrio metabólico relacionado ao diabetes pode causar distúrbios secundários em múltiplos sistemas orgânicos, o que pode gerar alterações na biodistribuição de radioisótopos (Vallabhajosula et al., 2010; Goes et al., 2016). Além disso, estudos demonstraram a interferência da quimioterapia e das plantas medicinais na biodistribuição do pertecnetato de sódio (Azevedo et al., 2010; Khosravian et al., 2019). No presente trabalho, observamos um aumento na captação do radiofármaco $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ no intestino e pâncreas (%ATI/grama de tecido) em animais diabéticos. Os principais reguladores fisiológicos secretados pelo pâncreas (insulina e glucagon) responsáveis pelo metabolismo glicêmico e homeostase podem ter sua atividade prejudicada pelos efeitos do DMT1 (Quesada et al., 2008). Além do pâncreas, no diabetes observa-se um desequilíbrio no intestino, órgão que exerce papel primordial na homeostase da glicose no sangue (Thomson, 1981). Portanto, o aumento da captação observado em ambos os órgãos pode indicar um distúrbio do metabolismo causado pela ALX, fator que pode alterar a biodistribuição do $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$. Notavelmente, o tratamento com mastruz diminuiu a biodistribuição de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ observada no pâncreas e intestino dos ratos diabéticos. Estudos anteriores demonstraram que plantas medicinais e seus derivados podem alterar a biodistribuição (Santos-Filho et al., 2007; Frederico et al., 2017) e, similarmente aos nossos achados, algumas plantas medicinais diminuíram a radioatividade de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (Amorim et al., 2003; Moreno et al., 2007). Este resultado sugere que o extrato poderia produzir metabólitos ativos em estruturas específicas levando a alterações na fisiologia desses órgãos e na biodisponibilidade do pertecnetato de sódio.

4.7 Respostas biológicas do EVCI no comportamento e funcionamento cerebral em estudos pré-clínicos (revisão sistemática publicada)

A intervenção por EVCI foi responsável por várias respostas, como a redução do dano cerebral pós-isquemia, em LME, e melhora do funcionamento neuromuscular e cerebral. Estudos anteriores demonstraram que o EVCI pode produzir alterações fisiológicas em vários níveis da estimulação dos receptores da pele, do sistema vestibular e dos fusos musculares, que levam a várias alterações na atividade cerebral, como no córtex somatossensorial, hipocampo, amígdala e tálamo (Heesterbeek et al., 2017; Boerema et al., 2018). Esses achados são consistentes com os resultados relatados pelos estudos incluídos nesta revisão. Dois estudos (Metthlach et al., 2014; Keijser et al., 2017) mostraram melhora no desempenho motor e na atenção. Além disso, a intervenção por EVCI aumentou a força muscular, a produção de força isométrica no músculo esquelético semitendinoso e diminuiu os efeitos fatigantes da estimulação muscular sináptica intensiva (Binder e Scharfman et al., 2004; Manthou et al., 2017). Além disso, o exercício melhorou a coordenação motora de 14 a 28 dias pós-isquemia e a força muscular dos membros superiores aos 21 e 28 dias pós-isquemia (Huang et al., 2018), o que corrobora a noção de que o EVCI é conhecido por melhorar o desempenho neuromuscular (Rittweger, 2010).

Em relação às mudanças comportamentais, o EVCI aumentou a latência para cair do rotarod em modelos pós-isquemia, aumentou a atividade motora inicial em um novo ambiente, diminuiu o limiar de retirada das patas traseiras e reduziu a excitação comportamental induzida experimentalmente (Metthlach et al., 2014; Zeeman et al., 2016; Boeram et al., 2018; Huang et al., 2018). Após o procedimento de isquemia e LME lombar em ratos, o EVCI de 8 e 15 Hz causou hipersensibilidade na pata traseira e dor desenvolvida logo após a exposição (Zeeman et al., 2016; Huang et al., 2018). Além disso, o EVCI produziu alodinia sustentada por longa duração durante 14 dias. De fato, apenas uma semana de exposição ao EVCI de 8 Hz foi capaz de induzir sensibilidade contínua com duração tão longa (Huang et al., 2018). Além disso, o EVCI de 30 Hz melhorou o comportamento exploratório em modelos induzidos por CRS (Peng et al., 2021). Portanto, esses achados comportamentais sugerem que os parâmetros utilizados no EVCI, como frequência, deslocamento pico a pico e número de exposições, desempenham um papel na resposta à dor e nos comportamentos semelhantes à depressão.

Considerando o funcionamento do cérebro, o EVCI revelou um efeito benéfico em modelos experimentais para isquemia cerebral e LME. Após isquemia, o EVCI de 40 Hz reduziu os níveis de citocina pró-inflamatória interleucina-1, proteínas do inflamassoma (caspase-1, domínio de recrutamento de caspase) e aumentou os níveis de BDNF e receptor de tropomiosina quinase B fosforilado (pTrK-B) no cérebro de ratos fêmeas de idade (Raval et al., 2018). Uma vez que a expressão de BDNF é aumentada nos neurônios por vários estressores (por exemplo, isquemia, trauma, hipoglicemia e epilepsia), essa exposição crônica confere neuroproteção (Metthlach et al., 2014). Além disso, durante a fase aguda após a isquemia, a neurogênese foi sutil a leve, mas potencializada pelo tratamento por EVCI de 15 Hz por um período mais longo (Huang et al., 2018). Isso sugere o potencial do EVCI para intensificar a neurogênese quando os indivíduos são expostos à VM por longos períodos. Também dá suporte a hipótese de que o mecanismo subjacente da ação da EVCI pode estar fortemente relacionado a efeitos cumulativos (Zeeman et al., 2016). Esses resultados também estão de acordo com a observação de que o EVCI pode melhorar alguns aspectos do desempenho cognitivo em indivíduos saudáveis (Binder e Scharfman et al., 2004). Estudo recente usando ratos idosos saudáveis revelou, em um protocolo de intervenção ECVI de 5 semanas com baixa intensidade (f : 30 Hz, A : 50–200 μ m), uma diminuição no nível de ansiedade e melhora da memória espacial, próximo a desempenho motor melhorado (Oroszi et al., 2022).

Adicionalmente, o papel do BDNF na promoção crescimento do nervo e a importante correlação entre a expressão de BDNF e dor, em modelos animais, dão suporte ao potencial do EVCI na regulação da dor no disco (Karthä et al., 2014). De fato, uma correlação estatística entre o aumento dos níveis BDNF de transcrição e proteína em discos expostos à vibração e aumento da sensibilidade comportamental à dor após os 14 dias de EVCI foi demonstrada (Karthä et al., 2014; Manthou et al., 2017). É sugerida uma possível ação do exercício através da modulação de BDNF, com aumento da hiperexcitabilidade neuronal no corno dorsal da coluna vertebral. Além disso, Peng et al., (2021) sugerem que o EVCI pode aliviar a perda dendrítica causada pela SRC.

Nosso grupo de pesquisa tem experiência no estudo dos efeitos biológicos da exposição crônica ao EVCI utilizando modelos animais. Nossa hipótese seria da prevenção dos efeitos já reportados pela indução por aloxana realizando o tratamento individual e combinado dos agentes (EVCI e mastruz), ambos feitos no mesmo ensaio experimental, o que já tinha sido feito no nosso laboratório anteriormente. De modo geral, o tratamento individual promoveu efeitos de regulação nos três parâmetros avaliados (funcional, fisiológico e

comportamental), enquanto o tratamento combinado teve atividade somente no parâmetro fisiológico. Portanto, é razoável sugerir que os agentes, quando combinados, podem ter desencadeado uma ação antagônica. O tratamento individual que teve efeito biológico mais contundente nesse estudo, foi o tratamento oral com mastruz.

Com esse estudo foi implementada a avaliação comportamental e neuroquímica ao protocolo base do nosso laboratório e abrimos a possibilidade de ser uma ferramenta de indicação terapêutica e/ ou preventiva em outros projetos de pesquisa do laboratório. Ademais, outro ponto interessante desse trabalho é o fato de que os animais foram selecionados na fase juvenil (2-3 meses), que é considerado o período mais comum dos sintomas da DMT1.

A revisão sistemática publicada representa o primeiro estudo de revisão do nosso grupo de pesquisa com estudos pré-clínicos e contou com a colaboração internacional de pesquisadores da Universidade de Groningen, Holanda. Além disso, este estudo contribui para literatura científica, como a primeira publicação envolvendo os efeitos benéficos do EVCI no comportamento e funcionamento do cérebro em modelos animais. Assim, o conhecimento adquirido com este trabalho de revisão possibilitará com que mais trabalhos de revisão sistemática com abordagem pré-clínica sejam conduzidos no laboratório.

CONCLUSÃO

Nos parâmetros funcionais, ao longo de 5 semanas o EVCI promoveu uma melhora na atividade locomotora e exploratória, além do comportamento do tipo ansioso dos ratos diabéticos. Por sua vez o tratamento oral com mastruz regulou a função alimentar e atividade exploratória, o que não se repetiu no tratamento combinado.

Nos parâmetros fisiológicos, o tratamento oral com mastruz regulou a perda de massa corporal e IMC, além da %HbA1c e concentração de triglicerídeo no sangue, e %radioatividade no pâncreas e intestino. Por outro lado, o EVCI também pareceu impedir a perda de massa corporal e IMC, aumentar a concentração de DOPAC no hipocampo, contudo não foram observadas alterações neuroquímicas nos demais produtos analisados no hipocampo e no córtex. O tratamento combinado regulou somente a perda de massa corporal e IMC, além dos níveis de HDL no sangue.

Os achados do presente estudo indicam que o tratamento individual foi capaz de produzir mais respostas biológicas do que o tratamento combinado. Estes achados sugerem a importância do mecanismo de feedback entre os distúrbios metabólicos decorrentes da descompensação do diabetes. Em conclusão, as respostas biológicas do tratamento individual com mastruz ou EVCI sugerem potencial terapêutico no manejo do DM induzido, podendo regular efeitos adversos causados pela ação da aloxana.

Na revisão sistemática, pode ser considerado que o EVCI parece ser uma terapia viável e eficaz para o tratamento de isquemia cerebral e LME. Além disso, também dão suporte ao uso do EVCI como intervenção para outras doenças cerebrais. As principais razões para esta conclusão são: (i) a existência de um conhecimento adequado dos parâmetros utilizados para aplicar o EVCI, evitando efeitos nocivos, (ii) as ações moduladoras do EVCI observadas ao nível das proteínas, enzimas, células imunitárias, neurônios, neurotrofinas e fatores neurotróficos, (iii) a constatação de achados com melhorias na função motora, atividade neuromuscular e sensibilidade comportamental por EVCI, (iv) e indicações de recuperação ou fortalecimento de certas funções cerebrais. O EVCI pode, portanto, representar uma intervenção de interesse para estudos clínicos.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, Maryam et al. Whole body vibration improves core muscle strength and endurance in ambulant individuals with multiple sclerosis: A randomized clinical trial. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 32, p. 88-93, 2019.
- AHMAD, Rizwan et al. Evaluation of clinical trials for natural products used in diabetes: An evidence-based systemic literature review. **Medicine**, v. 100, n. 16, 2021.
- AL-AZZAWIE, Hasan Fayadh; ALHAMDANI, Mohamed-Saiel Saeed. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. **Life Sciences**, v. 78, n. 12, p. 1371-1377, 2006.
- ALVARADO-MARTEL, Dácil et al. Identification of psychological factors associated with adherence to self-care behaviors amongst patients with type 1 diabetes. **Journal of Diabetes Research**, v. 2019, 2019.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes—2021. **Diabetes Care**, v. 44, n. Supplement_1, p. S73-S84, 2021.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION et al. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 28, n. 1, p. S37, 2005.
- AMORIM, L. F. et al. Assessment of the effect of *Punica granatum* (pomegranata) on the bioavailability of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate (^{99}mTc) in Wistar rats. **Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)**, v. 49, n. 4, p. 501-507, 2003.
- AN, Shanshan et al. Whole body vibration remodels skeletal muscle via autophagy and energy metabolism in diabetic mice. **Molecular Medicine Reports**, v. 25, n. 5, p. 1-8, 2022.
- ARENALES ARAUZ, Y. Laurisa et al. Short-term effects of side-alternating Whole-Body Vibration on cognitive function of young adults. **Plos One**, v. 18, n. 1, p. e0280063, 2023.
- ARENALES ARAUZ, Y. Laurisa et al. Potential of whole-body vibration in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of human and animal studies. **Biology**, v. 11, n. 8, p. 1238, 2022.
- ASSFALG, Robin et al. Oral insulin immunotherapy in children at risk for type 1 diabetes in a randomised controlled trial. **Diabetologia**, v. 64, p. 1079-1092, 2021.
- ATKINSON, Mark A.; EISENBARTH, George S.; MICHELS, Aaron W. Type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 383, n. 9911, p. 69-82, 2014.
- AZEVEDO, Ítalo Medeiros et al. Diabetes and biodistribution of pertechnetate ($\text{Na}^{99}\text{mTcO}_4$) in rats. **Journal of Surgical and Clinical Research**, v. 1, n. 1, p. 13-21, 2010.

- BARANOV, V. G. et al. Dopamine, noradrenaline and serotonin content in various parts of the hypothalamus in alloxan diabetes. **Problemy Endokrinologii**, v. 26, n. 3, p. 43-48, 1980.
- BARBOSA, Daniel Fernandes; LIMA, Carleuza Francisca de. Effects of physical exercise on anxiety-related behaviors in rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, p. 122-125, 2016.
- BEMBEN, Debra et al. Relevance of whole-body vibration exercises on muscle strength/power and bone of elderly individuals. **Dose-Response**, v. 16, n. 4, p. 1559325818813066, 2018.
- BERNSTEIN, Carrie M. et al. Mental health issues in adolescents and young adults with type 1 diabetes: prevalence and impact on glycemic control. **Clinical pediatrics**, v. 52, n. 1, p. 10-15, 2013.
- BETIK, Andrew C. et al. Whole-body vibration stimulates microvascular blood flow in skeletal muscle. **Medicine and Science Sports Exercise**, v. 53, n. 2, p. 375-383, 2021.
- BEZBARUAH, Rajashri et al. Ethanolic Extracts of *Dysphania ambrosioides* Alleviates Scopolamine-Induced Amnesia in Experimental Animals. In: **Phytomedicine and Alzheimer's Disease**. CRC Press, 2020. p. 247-260.
- BIALA, G; KRUK, M. Influence of bupropion and calcium channel antagonists on the nicotine-induced memory-related response of mice in the elevated plus maze. **Pharmacology Reports**, v. 61, n.2, p. 236-244, 2009.
- BONANNI, Roberto et al. Whole Body Vibration: A Valid Alternative Strategy to Exercise?. **Journal of Functional Morphology and Kinesiology**, v. 7, n. 4, p. 99, 2022.
- BOUCHER, Jean-Alexandre et al. Trunk neuromuscular responses to a single whole-body vibration session in patients with chronic low back pain: a cross-sectional study. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, v. 36, n. 9, p. 564-571, 2013.
- BRAHMACHARI, G. Mother nature: An inexhaustible source of drugs and lead molecules. **Chemistry, Biochemistry and Pharmacology**. 1st ed. New Delhi: Narosa Publishing House Pvt. Ltd, p. 1-20, 2009.
- BRAHMACHARI, Goutam. Naturally occurring flavanones: An overview. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 8, p. 1934578X0800300820, 2008.
- BRENU, Ekua W.; HARRIS, Mark; HAMILTON-WILLIAMS, Emma E. Circulating biomarkers during progression to type 1 diabetes: A systematic review. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, p. 1117076, 2023.
- BUM, E. Ngo et al. Anxiolytic activity evaluation of four medicinal plants from Cameroon. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 5S, 2011.

- CARDOSO, A.L.B.D et al. Effects of Coriandrum sativum L. in Association with Physical Exercise in Alloxan-Induced Type 1 Diabetes Mellitus in Rats. **Applied Sciences**, v. 9, n. 24, p. 5409, 2019.
- CARDOSO, A.L.B.D et al. Chenopodium ambrosioides associated with whole body vibration exercises alters the feed intake in Wistar rats. **Bioscience Reports**, v. 37, n. 4, 2017.
- CARIATI, I et al. Modulation of synaptic plasticity by vibratory training in young and old mice. **Brain Sciences**, v. 11, n. 1, p. 82, 2021.
- CALISKAN, H et al. Effects of exercise training on anxiety in diabetic rats. **Behavioural Brain Research**, v. 376, p. 112084, 2019.
- CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193-1205, 2005.
- CARPENTIER, Charlyne et al. Glycosuria amount in response to hyperglycaemia and risk for diabetic kidney disease and related events in Type 1 diabetic patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 34, n. 10, p. 1731-1738, 2019.
- CELIK, Selda; KELLECI, Meral; SATMAN, Ilhan. The factors associated with disease mismanagement in young patients with type 1 diabetes: a qualitative study. **International Journal of Community Based Nursing and Midwifery**, v. 3, n. 2, p. 84, 2015.
- CELIK, F. et al. Neuroprotective effects of carvacrol and pomegranate against methotrexate-induced toxicity in rats. **European Review Medical Pharmacology Science**, v. 17, p. 2988–2993, 2013.
- CHANG, Wen-Dien; CHEN, Shuya; TSOU, Yung-An. Effects of whole-body vibration and balance training on female athletes with chronic ankle instability. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 11, p. 2380, 2021.
- CHAN, Yih Kai et al. Influence of tail versus cardiac sampling on blood glucose and lipid profiles in mice. **Laboratory Animals**, v. 46, n. 2, p. 142-147, 2012.
- CHEN, Tao et al. Whole body vibration attenuates brain damage and neuroinflammation following experimental traumatic brain injury. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, 2022.
- CHIANG, Jane L. et al. Type 1 diabetes in children and adolescents: a position statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 41, n. 9, p. 2026-2044, 2018.
- CHOI, Wonchul; MIZUKAMI, Katsuyoshi. The effect of whole body vibration by sonic waves on mood, the autonomic nervous system, and brain function in elderly. **Nihon Ronen Igakkai zasshi. Japanese Journal of Geriatrics**, v. 57, n. 4, p. 441-449, 2020.

COELHO, Desiré Ferreira et al. Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 966-972, 2011.

CRUZ JR, ANATOLIO B. et al. Effect of intra-arterial insulin on tissue cholesterol and fatty acids in alloxan-diabetic dogs. **Circulation Research**, v. 9, n. 1, p. 39-43, 1961.

CYSNE, Dalila Nunes et al. Antimalarial potential of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. **Parasitology Research**, v. 115, p. 4327-4334, 2016.

DAI, Jin-Xia et al. Enhanced contextual fear memory in central serotonin-deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 33, p. 11981-11986, 2008.

DANNE, Thomas et al. Establishing glycaemic control with continuous subcutaneous insulin infusion in children and adolescents with type 1 diabetes: experience of the PedPump Study in 17 countries. **Diabetologia**, v. 51, p. 1594-1601, 2008.

DA SILVA, Sabrina Baleixo et al. Traditional uses, phytochemicals and pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L. (*Dysphania ambrosioides*) L. Mosyakin & Clemants. In: **Ethnopharmacology of Wild Plants**. CRC Press, 2021. p. 234-245.

DA SILVA, Marcel Gianni C. et al. Acute and sub-chronic toxicity of aqueous extracts of *Chenopodium ambrosioides* leaves in rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 9, p. 979-984, 2014.

DAS, Undurti N.; DAS, Undurti N. Insulin Resistance, Dyslipidemia, Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic Syndrome. **Molecular Basis of Health and Disease**, p. 277-332, 2011.

DAS, Joydeep; SIL, Parames C. Taurine ameliorates alloxan-induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats. **Amino Acids**, v. 43, p. 1509-1523, 2012.

DEEPTHI, B. et al. A modern review of diabetes mellitus: an annihilatory metabolic disorder. **Journal In Silico In Vitro Pharmacol**, v. 3, n. 1, 2017.

DE CARVALHO, Claudemir et al. Perfil glicêmico de ratos diabéticos aloxano-induzidos tratados com *Momordica charantia* L. **Revista Ciência e Saúde On-line**, v. 1, n. 1, 2016.

DEMBITSKY, Valery; SHKROB, Ilya; HANUS, Lumir Ondrej. Ascaridole and related peroxides from the genus *Chenopodium*. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc**, v. 152, n. 2, 2008.

DE SÁ-CAPUTO, Danúbia da Cunha et al. Vibration Therapy for Health Promotion. **Complementary Therapies**, p. 213, 2022.

DE SOUZA, Natana Munhóz. Plantas hipoglicemiantes presentes na RENISUS: uma abordagem etnofarmacológica. **FACIDER-Revista Científica**, n. 7, 2015.

DE SENNA, Priscylla Nunes et al. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 26, p. 269-279, 2011.

DIABETES PREVENTION TRIAL–TYPE 1 DIABETES STUDY GROUP. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 22, p. 1685-1691, 2002.

DOS SANTOS, Jousielle Marcia et al. Whole-Body Vibration Training on Oxidative Stress Markers, Irisin Levels, and Body Composition in Women with Fibromyalgia: A Randomized Controlled Trial. **Bioengineering**, v. 10, n. 2, p. 260, 2023.

DOUGNON, Godfried; ITO, Michiho. Role of Ascaridole and p-cymene in the sleep-promoting effects of *Dysphania ambrosioides* essential oil via the GABAergic system in a ddY mouse inhalation model. **Journal of Natural Products**, v. 84, n. 1, p. 91-100, 2020.

DUNN, Jacob; GRIDER, Michael H. Physiology, adenosine triphosphate. In: **StatPearls [internet]**. StatPearls Publishing, 2022.

DUNN, J. Shaw; MCLETCHIE, N. G. B. Experimental alloxan diabetes in the rat. **The Lancet**, v. 242, n. 6265, p. 384-387, 1943.

EGAN, Aoife M.; DINNEEN, Seán F. What is diabetes?. **Medicine**, v. 47, n. 1, p. 1-4, 2019.

EIZIRIK, Décio L.; PASQUALI, Lorenzo; CNOP, Miriam. Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 16, n. 7, p. 349-362, 2020.

ELANGO VAN, Abbirami et al. Antidiabetic and hypolipidemic efficacy of skin and seed extracts of *Momordica cymbalaria* on alloxan induced diabetic model in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 241, p. 111989, 2019.

EL-MESALLAMY, Amani et al. Attenuation of metabolic dysfunctions in the skeletal muscles of type 1 diabetic rats by *Stevia rebaudiana* extracts, via AMPK upregulation and antioxidant activities. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 17, n. 3, p. 289-297, 2018.

EMORDI, Jonathan Emeka et al. Antidiabetic effects of the ethanolic root extract of *Uvaria chamae* P. Beauv (Annonaceae) in alloxan-induced diabetic rats: a potential alternative treatment for diabetes mellitus. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2018, 2018.

EZEJA, Maxwell Ikechukwu; ANAGA, Aruh Ottah; ASUZU, Isaac U. Antidiabetic, antilipidemic, and antioxidant activities of *Gouania longipetala* methanol leaf extract in alloxan-induced diabetic rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 4, p. 605-614, 2015.

FERNANDEZ, Sebastian P. et al. The flavonoid glycosides, myricitrin, gossypin and naringin exert anxiolytic action in mice. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 1867-1875, 2009.

FOROUHI, Nita Gandhi; WAREHAM, Nicholas J. Epidemiology of diabetes. **Medicine**, v. 38, n. 11, p. 602-606, 2010.

FOUSTERI, Georgia et al. Beta-cell specific autoantibodies: are they just an indicator of type 1 diabetes?. **Current Diabetes Reviews**, v. 13, n. 3, p. 322-329, 2017.

FRANDSEN, Christian Seerup et al. Non-insulin pharmacological therapies for treating type 1 diabetes. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 19, n. 9, p. 947-960, 2018.

FREDERICO, Éric H.F.F et al. Whole body vibration exercise combined with an extract of *Coriandrum sativum* modify some biochemical/physiological parameters in rats. **Bioscience Reports**, v. 37, n. 3, 2017.

FULK, L. J. et al. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 25, n. 01, p. 78-82, 2004.

FURMAN, Brian L. et al. Reduction of blood glucose by plant extracts and their use in the treatment of diabetes mellitus; discrepancies in effectiveness between animal and human studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, p. 112264, 2020.

GAO, Hongchang et al. Type 1 diabetes induces cognitive dysfunction in rats associated with alterations of the gut microbiome and metabolomes in serum and hippocampus. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1865, n. 12, p. 165541, 2019.

GIBBS, G. E.; WILSON, R. B.; GIFFORD, H. Glomerulosclerosis in the long-term alloxan diabetic monkey. **Diabetes**, v. 15, n. 4, p. 258-261, 1966.

GILLE, Lars et al. Toxicity of ascaridole from *Chenopodium ambrosioides* in mammalian mitochondria. In: **BMC Pharmacology**. BioMed Central, 2010. p. 1-1.

GÓES, Vanessa Coelho et al. Streptozotocin (STZ) and schistosomiasis mansoni change the biodistribution of radiopharmaceutical sodium 99mTc-pertechnetate in mice. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 43, n. 9, p. 581-586, 2016.

GOLDNER, MARTIN G.; GOMORI, GEORGE. Studies on the mechanism of alloxan diabetes. **Endocrinology**, v. 35, n. 4, p. 241-248, 1944.

GOMORI, George; GOLDNER, Martin G. Acute Nature of Alloxan Damage. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 58, n. 3, p. 232-233, 1945.

GRUNBERGER, G. The need for better insulin therapy. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 15, n. s1, p. 1-5, 2013.

GULVE, Eric Arthur. Exercise and glycemic control in diabetes: benefits, challenges, and adjustments to pharmacotherapy. **Physical Therapy**, v. 88, n. 11, p. 1297-1321, 2008.

HAN, Yong-Gu; LEE, Soon-Won; YUN, Chang-Kyo. The immediate influence of various whole-body vibration frequency on balance and walking ability in children with cerebral palsy: a pilot study. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 15, n. 4, p. 597, 2019.

HARA, Naoko et al. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes. **Clinical Immunology**, v. 146, n. 2, p. 112-119, 2013.

HERRERO, A. J. et al. Effects of whole-body vibration on blood flow and neuromuscular activity in spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 49, n. 4, p. 554-559, 2011.

HO, Kim L. et al. Metabolic, structural and biochemical changes in diabetes and the development of heart failure. **Diabetologia**, v. 65, n. 3, p. 411-423, 2022.

ILONEN, Jorma; LEMPAINEN, Johanna; VEIJOLA, Riitta. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 11, p. 635-650, 2019.

JACOB, A. N. et al. Potential causes of weight gain in type 1 diabetes mellitus. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 8, n. 4, p. 404-411, 2006.

JAWED, Yameena et al. Whole-body vibration training increases stem/progenitor cell circulation levels and may attenuate inflammation. **Military Medicine**, v. 185, n. Supplement_1, p. 404-412, 2020.

JEPSEN, D. B. et al. The combined effect of Parathyroid hormone (1–34) and whole-body Vibration exercise in the treatment of postmenopausal Osteoporosis (PaVOS study): a randomized controlled trial. **Osteoporosis International**, v. 30, p. 1827-1836, 2019.

JUGRAN, Arun K. et al. Diabetes and plant-derived natural products: From ethnopharmacological approaches to their potential for modern drug discovery and development. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 1, p. 223-245, 2021.

KAEDING, T. S. et al. Whole-body vibration training as a workplace-based sports activity for employees with chronic low-back pain. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 27, n. 12, p. 2027-2039, 2017.

KAHANOVITZ, Lindy; SLUSS, Patrick M.; RUSSELL, Steven J. Type 1 diabetes—a clinical perspective. **Point of care**, v. 16, n. 1, p. 37, 2017.

KALA, S. MARY JELASTIN; TRESINA, P. S.; MOHAN, V. R. Antioxidant, antihyperlipidaemic and antidiabetic activity of *Eugenia singampattiana* Bedd leaves in alloxan induced diabetic rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 412-416, 2012.

KASALI, Félicien Mushagalusa et al. Effects of the Oral Administration of Aqueous and methanolic leaf extracts of *Chenopodium ambrosioides* L.(Amaranthaceae) on Blood Glucose Levels in Wistar Rats. **Journal of Experimental Pharmacology**, p. 139-148, 2022.

KASALI, Félicien Mushagalusa et al. Ethnomedical uses, chemical constituents, and evidence-based pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L.: extensive overview. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, p. 1-36, 2021

KATSAROU, Anastasia et al. Type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2017.

KALA, S. MARY JELASTIN; TRESINA, P. S.; MOHAN, V. R. Antioxidant, antihyperlipidaemic and antidiabetic activity of *Eugenia singampattiana* Bedd leaves in alloxan induced diabetic rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 412-416, 2012.

KEIJSER, Jan N. et al. Whole body vibration improves attention and motor performance in mice depending on the duration of the whole-body vibration session. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 14, n. 4, p. 128-134, 2017

KHOSRAVIAN, Pegah; HEIDARI-SOURESHJANI, Saeid; YANG, Qian. Effects of medicinal plants on radiolabeling and biodistribution of diagnostic radiopharmaceuticals: A systematic review. **Plant Science Today**, v. 6, n. 2, p. 123-131, 2019.

KITAMOTO, Takumi et al. Favorable Effects of 24-Week Whole-Body Vibration on Glycemic Control and Comprehensive Diabetes Therapy in Elderly Patients with Type 2 Diabetes. **Diabetes Therapy**, v. 12, n. 6, p. 1751-1761, 2021.

KIRWAN, John P.; SACKS, Jessica; NIEUWOUDT, Stephan. The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 84, n. 7 Suppl 1, p. S15, 2017.

KNOX, Emily CL et al. Impact of technology-based interventions for children and young people with type 1 diabetes on key diabetes self-management behaviours and prerequisites: a systematic review. **BMC Endocrine Disorders**, v. 19, n. 1, p. 1-14, 2019.

KOOTI, Wesam et al. The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. **Electronic physician**, v. 8, n. 1, p. 1832, 2016.

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. **Pre-clinical Models: Techniques and Protocols**, p. 99-103, 2019.

KRISHNAN, Babu et al. Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. **World Journal of Diabetes**, v. 4, n. 3, p. 51, 2013.

KUMAR, Rajesh et al. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, n. 2, p. 159-164, 2007.

LACY, Mary E. et al. Long-term glycemic control and dementia risk in type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 41, n. 11, p. 2339-2345, 2018.

LAI, Zhangqi et al. Comparison of whole-body vibration training and quadriceps strength training on physical function and neuromuscular function of individuals with knee osteoarthritis: A randomised clinical trial. **Journal of Exercise Science & Fitness**, v. 19, n. 3, p. 150-157, 2021.

LECHLEITNER, Monika; HOPPICHLER, Friedrich. Insulintherapie. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 161, p. 300-304, 2011.

LENZEN, Sigurd. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LEVIN-ARAMA, Maya et al. Subcutaneous compared with intraperitoneal ketamine–xylazine for anesthesia of mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 55, n. 6, p. 794-800, 2016.

LI, Kuan-yi et al. The Effect of Whole-Body Vibration on Proprioception and Motor Function for Individuals with Moderate Parkinson Disease: A Single-Blind Randomized Controlled Trial. **Occupational Therapy International**, v. 2021, 2021.

LI, Wei; HUANG, Edgar; GAO, Sujuan. Type 1 diabetes mellitus and cognitive impairments: a systematic review. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 57, n. 1, p. 29-36, 2017.

LI, Min; SONG, Lu-Jun; QIN, Xin-Yu. Advances in the cellular immunological pathogenesis of type 1 diabetes. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 749-758, 2014.

LIN, Li-Wei et al. Differential change in cortical and hippocampal monoamines, and behavioral patterns in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 21, n. 10, p. 1026, 2018.

LIU, Nancy F. et al. Stigma in people with type 1 or type 2 diabetes. **Clinical Diabetes**, v. 35, n. 1, p. 27-34, 2017.

LODEFALK, Maria; ÅMAN, Jan. Gastrointestinal symptoms in adolescents with type 1 diabetes. **Pediatric Diabetes**, v. 11, n. 4, p. 265-270, 2010.

LUCCHESI, Amanda Natália; CASSETTARI, Lucas Langoni; SPADELLA, César Tadeu. Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, 2015.

MAAHS, David M. et al. Epidemiology of type 1 diabetes. **Endocrinology and Metabolism Clinics**, v. 39, n. 3, p. 481-497, 2010.

MACDONALD IGHODARO, Osasenaga; MOHAMMED ADEOSUN, Abiola; ADEBOYE AKINLOYE, Oluseyi. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. **Medicina**, v. 53, n. 6, p. 365-374, 2017.

MAGLIANO, Dianna J. et al. Trends in the incidence of diagnosed diabetes: a multicountry analysis of aggregate data from 22 million diagnoses in high-income and middle-income settings. **The lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 9, n. 4, p. 203-211, 2021.

MARDEN, Jessica R. et al. High hemoglobin A1c and diabetes predict memory decline in the health and retirement study. **Alzheimer Disease and Associated Disorders**, v. 31, n. 1, p. 48, 2017.

MARIN-PUYALTO, Jorge et al. Effects of whole-body vibration training on bone density and turnover markers in adolescent swimmers. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 33, n. 5, p. 623-630, 2020.

MCGILL, Dayna E. et al. Depressive symptoms at critical times in youth with type 1 diabetes: following type 1 diabetes diagnosis and insulin pump initiation. **Journal of Adolescent Health**, v. 62, n. 2, p. 219-225, 2018.

METWALLY, M. et al. Protective Effect of L-ascorbic Acid in Alloxan Diabetic Rats. **Global Veterinaria**, v. 14, n. 3, p. 292-296, 2015.

MOHAMMADI, Moslem; ZARE, Zohreh. Effects of treadmill exercise on cognitive functions and anxiety-related behaviors in ovariectomized diabetic rats. **Physiology & Behavior**, v. 224, p. 113021, 2020.

MONA, Hassan M. et al. Dyslipidemia in type 1 diabetes mellitus: relation to diabetes duration, glycemic control, body habitus, dietary intake and other epidemiological risk factors. **Egyptian Pediatric Association Gazette**, v. 63, n. 2, p. 63-68, 2015.

MORENO, S. R. F. et al. Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 77-80, 2007.

MOTTALIB, Adham et al. Weight management in patients with type 1 diabetes and obesity. **Current Diabetes Reports**, v. 17, p. 1-9, 2017.

MOTTALIB, Adham et al. Weight management in patients with type 1 diabetes and obesity. **Current Diabetes Reports**, v. 17, p. 1-9, 2017.

MUNEYUKI, Toshitaka et al. Latent associations of low serum amylase with decreased plasma insulin levels and insulin resistance in asymptomatic middle-aged adults. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2012.

NASCIMENTO, Flávia RF et al. Macrophage activation induced by *Orbignya phalerata* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 53-58, 2006.

NAGHII, M.R. et al. Effect of combination therapy of fatty acids, calcium, vitamin D and boron with regular physical activity on cardiovascular risk factors in rat. **Journal of Oleo Science**, v. 61, n. 2, p. 103-111, 2012.

NORTHAM, Elisabeth A. et al. Psychiatric morbidity and health outcome in Type 1 diabetes—perspectives from a prospective longitudinal study. **Diabetic Medicine**, v. 22, n. 2, p. 152-157, 2005.

NOVELLI, E.L.B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.

NUNES, Raquel Ramalho et al. Confiabilidade da classificação do estado nutricional obtida através do IMC e três diferentes métodos de percentual de gordura corporal em pacientes com diabetes melito tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, p. 360-367, 2009.

ODANO, Ikuo et al. Whole-body vibration exercise and training increase regional CBF in mild cognitive impairment with enhanced cognitive function. **Annals of Nuclear Medicine**, v. 36, n. 1, p. 82-94, 2022.

OLURISHE, Comfort et al. Chronic administration of ethanol leaf extract of *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) may compromise glycaemic efficacy of Sitagliptin with no significant effect in retinopathy in a diabetic rat model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 895-903, 2016.

OROSZI, Tamás et al. Chronic whole body vibration ameliorates hippocampal neuroinflammation, anxiety-like behavior, memory functions and motor performance in aged male rats dose dependently. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 9020, 2022.

OROSZI, Tamás et al. Whole body vibration improves spatial memory, anxiety-like behavior, and motor performance in aged male and female rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 13, p. 962, 2022.

PASI, Rachna; RAVI, Kumar Satish. Type 1 diabetes mellitus in pediatric age group: A rising endemic. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 11, n. 1, p. 27, 2022.

PATIL, Chandrashekhar S. et al. Protective effect of flavonoids against aging-and lipopolysaccharide-induced cognitive impairment in mice. **Pharmacology**, v. 69, n. 2, p. 59-67, 2003.

PATRÍCIO, Fernando J. et al. Efficacy of the intralesional treatment with *Chenopodium ambrosioides* in the murine infection by *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, n. 2, p. 313-319, 2008.

PAULI, José Rodrigo et al. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, p. 399-408, 2009.

PREETHA, P. P.; DEVI, V. Girija; RAJAMOHAN, T. Comparative effects of mature coconut water (*Cocos nucifera*) and glibenclamide on some biochemical parameters in alloxan induced diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 481-487, 2013.

QUESADA, Ivan et al. Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. **J Endocrinol**, v. 199, n. 1, p. 5-19, 2008.

RADENKOVIĆ, Miroslav; STOJANOVIĆ, Marko; PROSTRAN, Milica. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 78, p. 13-31, 2016.

RAJAGOPAL, K.; SASIKALA, K. Antihyperglycaemic and antihyperlipidaemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan-induced diabetic rats. **Singapore Medical Journal**, v. 49, n. 2, p. 137, 2008.

RAUCH, Frank et al. Reporting whole-body vibration intervention studies: recommendations of the International Society of Musculoskeletal and Neuronal Interactions. **Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions**, v. 10, 2010.

RAVIKUMAR, R. et al. Antidiabetic and antioxidant efficacy of *Andrographis paniculata* in alloxanized albino rats. **International Journal of Pharmacy and Technology**, v. 2, n. 4, p. 1016-1027, 2010.

RECHENBERG, Kaitlyn; WHITTEMORE, Robin; GREY, Margaret. Anxiety in youth with type 1 diabetes. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 32, p. 64-71, 2017.

REGNELL, Simon E.; LERNMARK, Åke. Early prediction of autoimmune (type 1) diabetes. **Diabetologia**, v. 60, n. 8, p. 1370-1381, 2017.

REIS-SILVA, Aline et al. Impact of Two Whole-Body Vibration Exercise Protocols on Body Composition of Patients with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 1, p. 436, 2022.

RODGERS, R.J; DALVI, Allan. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.

RODRIGUES, João Gustavo Mendes et al. The immunomodulatory activity of *Chenopodium ambrosioides* reduces the parasite burden and hepatic granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni*-infection. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 264, p. 113287, 2021.

RODRIGUES, Mônica L. C.; MOTTA, Maria E. F. A. Mecanismos e fatores associados aos sintomas gastrointestinais em pacientes com diabetes melito. **Jornal de Pediatria**, v. 88, p. 17-24, 2012.

RITTWEGER, Jörn. Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, p. 877-904, 2010.

RITZMANN, Ramona et al. Whole body vibration training-improving balance control and muscle endurance. **PloS One**, v. 9, n. 2, p. e89905, 2014.

RYS, Przemyslaw M. et al. Continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily injections in pregnant women with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. **European Journal of Endocrinology**, v. 178, n. 5, p. 545-563, 2018.

SÁ, Rafaela D. et al. Anatomical and histochemical analysis of *Dysphania ambrosioides* supported by light and electron microscopy. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 533-543, 2016.

SANTOS-FILHO, Sebastiao David et al. Aqueous extract of the medicinal plant *Mentha crispera* alters the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in Wistar rats. **Medicinal Chemistry Research**, v. 16, p. 230-237, 2007.

SALEHI, Bahare et al. Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. **Biomolecules**, v. 9, n. 10, p. 551, 2019.

SATO, Koji et al. Acute bout of exercise induced prolonged muscle glucose transporter-4 translocation and delayed counter-regulatory hormone response in type 1 diabetes. **PloS One**, v. 12, n. 6, p. e0178505, 2017.

SCAVONE, G. et al. Effect of carbohydrate counting and medical nutritional therapy on glycaemic control in type 1 diabetic subjects: a pilot study. **Diabetic Medicine**, v. 27, n. 4, p. 477-479, 2010.

SCHOFIELD, Jonathan; HO, Jan; SORAN, Handrean. Cardiovascular risk in type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Therapy**, v. 10, p. 773-789, 2019.

SEEGER, J. P. H. et al. Exercise training improves physical fitness and vascular function in children with type 1 diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 13, n. 4, p. 382-384, 2011.

SEO, Jin-Hee. Treadmill exercise alleviates stress-induced anxiety-like behaviors in rats. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 14, n. 5, p. 724, 2018.

SESTAKOVA, Natalia et al. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 6, n. 3, p. 126-135, 2013.

SHANKAR, Eswar; SANTHOSH, K. T.; PAULOSE, C. S. Dopaminergic regulation of glucose-induced insulin secretion through dopamine D2 receptors in the pancreatic islets in vitro. **IUBMB life**, v. 58, n. 3, p. 157-163, 2006.

SHERIF, E. M.; ELZOGHBY, D. M. A.; ELADAWY, R. Serum Trypsinogen and Lipase as Biomarkers of Exocrine Pancreatic Function in Newly Diagnosed Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. **International Journal of Diabetes and Clinical Research**, v. 7, p. 118, 2020.

SHERMAN, W. M. et al. Glycemia and exercise training alter glucose transport and GLUT4 in the Zucker rat. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, n. 3, p. 341-348, 1993.

SHALIMOVA, Anna et al. Cognitive dysfunction in type 1 diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 104, n. 6, p. 2239-2249, 2019.

SONG, Mi-Jang; LEE, Sun-Mee; KIM, Dong-Ku. Antidiabetic effect of *Chenopodium ambrosioides*. **Phytopharmacology**, v. 1, n. 2, p. 12-15, 2011.

STIPANCIC, Gordana et al. Clinical characteristics at presentation of type 1 diabetes mellitus in children younger than 15 years in Croatia. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v 24, n. 9, p. 665-670, 2011.

SUN, Hong et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 183, p. 109119, 2022.

THOMAS, Nicholas J. et al. Type 1 diabetes defined by severe insulin deficiency occurs after 30 years of age and is commonly treated as type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 62, n. 7, p. 1167-1172, 2019.

THOMSON, A. B. R. Uptake of glucose into the intestine of diabetic rats: effects of variations in the effective resistance of the unstirred water layer. **Diabetes**, v. 30, n. 3, p. 247-255, 1981.

TMARKOWITZ, Jessica; C GARVEY, Katharine; MB LAFFEL, Lori. Developmental changes in the roles of patients and families in type 1 diabetes management. **Current Diabetes Reviews**, v. 11, n. 4, p. 231-238, 2015.

TRIVELLATOGRASSI, Liliane et al. From popular use to pharmacological validation: a study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 127-138, 2013.

VALLABHAJOSULA, Shankar; KILLEEN, Ronan P.; OSBORNE, Joseph R. Altered biodistribution of radiopharmaceuticals: role of radiochemical/pharmaceutical purity, physiological, and pharmacologic factors. In: **Seminars in Nuclear Medicine**. WB Saunders, 2010. p. 220-241.

VAN HEUVELEN, Marieke JG et al. Reporting guidelines for whole-body vibration studies in humans, animals and cell cultures: a consensus statement from an international group of experts. **Biology**, v. 10, n. 10, p. 965, 2021.

WALSH, Roger N.; CUMMINS, Robert A. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.

WANG, Dong-Dong et al. Quantifying the relationship between dapagliflozin and loss of weight in type 1 diabetes mellitus patients. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 47, n. 2, p. 237-242, 2022.

WANG, Yiming et al. Cognitive impairments in type 1 diabetes mellitus model mice are associated with synaptic protein disorders. **Neuroscience Letters**, v. 777, p. 136587, 2022.

WANG, Jin-Jun et al. Phytoecdysteroids from *Ajuga iva* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 480-488, 2017.

WANG, Y; KERRICK, W.G.L. The off rate of Ca²⁺ from troponin C is regulated by force-generating cross bridges in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 92, n. 6, p. 2409-2418, 2002.

WILLCOX, Merlin L. et al. Effectiveness of medicinal plants for glycaemic control in type 2 diabetes: an overview of meta-analyses of clinical trials. **Frontiers in Pharmacology**, p. 3402, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Classification of diabetes mellitus. 2019. Disponível em <https://www.who.int/publications/i/item/classification-of-diabetes-mellitus>, Acesso em 20 maio 2023.

WUESTEFELD, Anika et al. Towards reporting guidelines of research using whole-body vibration as training or treatment regimen in human subjects—A Delphi consensus study. **PloS One**, v. 15, n. 7, p. e0235905, 2020.

YI, Lian; SWENSEN, Adam C.; QIAN, Wei-Jun. Serum biomarkers for diagnosis and prediction of type 1 diabetes. **Translational Research**, v. 201, p. 13-25, 2018.

YU, Jack C. et al. Whole body vibration-induced omental macrophage polarization and fecal microbiome modification in a murine model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3125, 2019.

ZAMBOU, D. D. K et al. Effects of *Chenopodium ambrosioides* meal as food additive in the diet, on feed intake, in vivo digestibility and caecal flora dynamism of cavies. **Journal of Veterinary Research Advances**, v. 4, n. 2, p. 07-17, 2022.

ZIEGLER, Anette-Gabriele et al. Oral insulin therapy for primary prevention of type 1 diabetes in infants with high genetic risk: the GPPAD-POInT (global platform for the prevention of autoimmune diabetes primary oral insulin trial) study protocol. **BMJ Open**, v. 9, n. 6, p. e028578, 2019.

ANEXO A – Formato da revisão sistemática publicada

Behavioural Brain Research 431 (2022) 113933



Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Brain Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbr

Review

Beneficial effects of whole-body vibration exercise for brain disorders in experimental studies with animal models: a systematic review

A.L.B.D. Cardoso^{a,b,*}, Danúbia C. Sá-Caputo^b, Nasser R. Asad^b, Marieke JG van Heuvelen^d, Eddy A. van der Zee^e, Anderson Ribeiro-Carvalho^c, Mario Bernardo-Filho^b^a Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 20551-030, RJ, Brazil^b Laboratório de Vibrações Mecânicas e Práticas Integrativas, Departamento de Biofísica e Biometria, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 20551-030, RJ, Brazil^c Departamento de Ciências, Faculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil^d Department of Human Movement Sciences, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands^e Molecular Neurobiology, Groningen Institute for Evolutionary Sciences, University of Groningen, the Netherlands

ARTICLE INFO

Keywords:

Brain disorder
Whole-body vibration
Animal studies
Brain
Behaviour

ABSTRACT

Brain disorders have been a health challenge and is increasing over the years. Early diagnosis and interventions are considered essential strategies to treat patients at risk of brain disease. Physical exercise has shown to be beneficial for patients with brain diseases. A type of exercise intervention known as whole-body vibration (WBV) exercise gained increasing interest. During WBV, mechanical vibrations, produced by a vibrating platform are transmitted, to the body. The purpose of the current review was to summarize the effects of WBV exercise on brain function and behavior in experimental studies with animal models. Searches were performed in EMBASE, PubMed, Scopus and Web of Science including publications from 1960 to July 2021, using the keywords “whole body vibration” AND (animal or mice or mouse or rat or rodent). From 1284 hits, 20 papers were selected. Rats were the main animal model used (75%) followed by mice (20%) and porcine model (5%), 16 studies used males species and 4 females. The risk of bias, assessed with the SYRCL Risk of Bias tool, indicated that none of the studies fulfilled all methodological criteria, resulting in possible bias. Despite heterogeneity, the results suggest beneficial effects of WBV exercise on brain functioning, mainly related to motor performance, coordination, behavioral control, neuronal plasticity and synapse function. In conclusion, the findings observed in animal studies justifies continued clinical research regarding the effectiveness and potential of WBV for the treatment of various types of brain disorders such as trauma, developmental disorders, neurogenetic diseases and other neurological diseases.

1. Introduction

Brain disorders have been a health challenge since their prevalence have been increasing over the years [1], as can be seen in the steadily increasing numbers of people affected worldwide [2,3]. Despite the human health concern, some brain disorders such as trauma (spinal cord and head injury) [4,5], developmental disorders (such as cerebral palsy) [6], neurodegenerative diseases (such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease) [7–9], neurogenetic diseases (Huntington's disease and muscular dystrophy) [10,11], convulsive disorders (such as epilepsy) [12] are recognised for their complexity [13]. Based on their

manifestation, these disturbances are difficult to treat, and can have a devastating effect on individuals' health during a lifetime [14]. Moreover, they can have serious consequences for society, due to a heavy care demand, which can overburden the health-care system [15].

In response to complexity and the need for information, clinical studies investigated therapeutic approaches to treat patients with brain disorders [16–19], while experimental studies explored brain regions, providing an integrative neurobiological framework of the underlying mechanisms, which culminate from behavioral, metabolic, endocrine, and energy balance processes into neurobiological processes related to these disturbs [9,20,21]. Thus, understanding factors that lead to these

* Correspondence to: Laboratório de Vibrações Mecânicas e Práticas Integrativas, Departamento de Biofísica e Biometria, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Avenida 28 de Setembro, 87, fundos, 4º andar, 20551031 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
E-mail address: andreluisdionizio@hotmail.com (A.L.B.D. Cardoso).

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113933>

Received 27 March 2022; Received in revised form 28 April 2022; Accepted 14 May 2022

Available online 30 May 2022

0166-4328/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

neurological manifestations might allow the formulation and application of preventive strategies able to regulate neural functioning in these manifestations, giving basis for new treatment options [22–24].

Brain diseases are characterized by chronic and progressive deterioration in cognitive functions and behaviour, loss of physical function, muscle strength, quality of life, psychological symptoms and other comorbidities [25,26]. Currently, there are pharmacological treatment options available to influence the course of brain diseases [27,28]. Early diagnosis and interventions are considered essential strategies to treat people with the risk of brain diseases [29–31].

Non-pharmacological treatments have been important for the improvement of cognitive functions [32–34]. In line with this notion, physical exercise has demonstrated a positive impact on neurodegeneration [35]. In fact, physical exercise can represent a potential treatment option in individuals with neurological issues [36]. The importance of exercise training in driving neural circuitry, improving brain function, hippocampal plasticity and memory, and reducing secondary complications is well documented, but factors influencing training outcomes are diverse [37,38]. However, in many cases, individuals with moderate to severe brain disorders are often unable to adhere to the physical activity regimen due to the complications triggered by the disease [39].

Accordingly, whole-body vibration (WBV) exercise has been proposed as an alternative for active exercise for those that cannot participate in active exercise, for example due to physical or mental issues [40, 41]. WBV is an exercise modality or treatment/prophylaxis method in which subjects are exposed to mechanical vibrations through a vibrating platform [42]. During WBV subjects can perform dynamic exercises on the platform or take a static posture [43]. The vibrations produced by the platform are defined by mechanical parameters, like frequency, amplitude, or peak-to-peak displacement, and peak acceleration [40, 43]. Over time, WBV exercise has acquired acceptance for a number of clinical conditions including physical disability [44], sports injuries [45], multiple sclerosis [46], osteoporosis [47], lumbar disk disease and lower back pain [44,48] and cerebral palsy [49]. WBV has been used in different patient groups [50] and athletes [51] to improve functional mobility and neuromuscular performance, including endurance, power and muscle strength. Moreover, in spinal cord injury (SCI), WBV training reduces muscle spasticity, improves spinal reflex modulation [52,53], walking function [54] and quadriceps strength in motor incomplete patients [55], which increasing the interest of WBV exercise as a clinical therapy after SCI.

WBV exercise has been shown to be a suitable intervention under many different conditions. However, the effects of WBV exercise on metabolic intermediates related to signaling pathways, as well as neuroprotective mechanisms to delay or to disrupt the neurodegenerative processes remain unclear [56,57]. WBV can also be applied to (small) animals with high translational relevance [42]. Animal models, with various approaches, have been used to try understanding biological responses to WBV exercise (acute and cumulative), as well as to evaluate which effects can be observed from the low to high intensity vibration, considering its transferability for humans investigations. [59–64]. Therefore, the purpose of current systematic review is to summarize the results of experimental studies in animal models into the effects of WBV exposure on brain and behavior. The findings might reinforce the efficiency and safety of WBV exercise in improving human brain functioning and neurobehavioral performance, which may serve as a reference for the design of new clinical trials.

2. Methods

2.1. Search strategy

This systematic review followed the guidelines of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA statement) [65]. English electronic databases were systematically

searched to identify animal studies that used WBV. The literature search was performed on PubMed, Scopus, Embase and Web of Science (on July 4th, 2021), using the keywords “whole body vibration” AND (animal or mice or mouse or rat or rodent).

The guiding question was: Does WBV exposure cause alterations on brain functioning and behavior in animal models? The PICOS method was used, and the acronym defines: Problem (P)– limited knowledge about underlying mechanisms from WBV intervention in a neurobiological evaluation/ perspective; Intervention (I)– WBV; Comparison (C)– other treatments or no comparison; Outcome (O)– Comprehension about what effects WBV exposure can promote on brain structure, brain function and neuromuscular functions; Study design (S)– experimental intervention studies.

2.2. Inclusion and exclusion criteria

A systematic selection of the publications was carried out by two independent examiners (A.C and A.R) based on the following inclusion criteria: 1) animal studies 2) in vitro trials or in vivo measurements to investigate the effects of WBV intervention on brain functioning and behaviour; 3) outcome measures are related to brain functioning or behaviour; 4) evaluation of short and/or long-term intervention; 5) full-text literature published in English. Short communications, case reports, review articles, books, expert opinion or consensus statements were excluded. Also excluded were those publications that used WBV to induce stress for a drug treatment protocol; to treat chronic conditions such as diabetes, cardiovascular diseases; or used WBV associated with other product or therapy.

2.3. Data extraction

Data were extracted from the full-text version of the publications by three reviewers (A.C, D.S and N.A). Data included the year of publication, authors, species, aim, WBV device, WBV variables, period of intervention, study design, parameters evaluated, outcomes and conclusion. Discrepancies were discussed with a fourth reviewer (M.B).

2.4. Appraisal of risk of bias

The risk of bias was assessed by three independent reviewers (A.C, M. H and A.R) using the Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) protocol [66]. The disagreements were solved by a fourth reviewer (M.B). Adapted version of Hooijmans et al. [66], in which in case of missing information an unclear risk of bias is scored instead of a low risk of bias. Disagreements were discussed with a fifth reviewer (E.Z).

3. Results

3.1. Search results

The search strategy performed in electronic databases, resulted in 1284 hits, yielding 257 articles from PubMed, 435 from Scopus, 221 from Embase and 371 from Web of Science, containing publications from 1960 to 2021. After removing duplicates (605 articles), 422 papers were screened, on titles and abstracts. Of those, 376 publications were excluded because the abstracts showed that they did not match the inclusion criteria. Thus, 46 studies were identified as potentially eligible and subjected to more detailed analysis. Twenty-six were eliminated for the following reasons: 1) papers used WBV for treating different conditions (diabetes mellitus type 2 and for fluoxetine hydrochloride efficacy); 2) papers used another intervention (noise) combined with WBV to test for stress responses; 3) papers did not specify the sample or even the device used for WBV exercises and 4) studies with different goals, such as those used to characterize the resonance of the spine, acutely injured spinal cord, to determine the range of frequency values where

animals are unable to attenuate vibrations and for in vivo electrophysiological recordings (Fig. 1).

3.2. Selected studies

As shown in Table 1, the 20 selected articles were organized by year of publication, authors, animal species, aim, WBV device, WBV variables, duration of intervention and study design (Table 1). Although some studies (40%, $n = 8$) included healthy animals models, a larger number of studies (60%, 12 studies) included animals models with clinical conditions such as SCI, cerebral ischemia, Parkinson's disease (PD), sciatic injury, chronic restraint stress (CRS) and brain injury. All results related to the effects of WBV on brain functions or behavioral performance were considered.

Rats (*Rattus norvegicus*) were the main animal model used (15 studies), followed by mice (*Mus musculus*, 4 studies) and a porcine model (*Sus scrofa domestica*, 1 study). 70% (14 studies) of the animals were males and 30% (6 studies) females. Moreover, in regard to rat strains, most studies preferred Wistar rats (40%, 8 studies), followed by Sprague-Dawley (25%, 5 studies) and Holtzman rats (10%, 2 studies). Among mouse strains studies, 15% of the studies used C57BL/6 J (3 studies) and 5% used CD1 (1 study), while the porcine lineage was Yucatan (5%, 1 study). Only 7 studies reported the age of the animals, which ranged from 2 to 26 weeks. The body mass of the rats ranged from 175 to 350 g, porcine weighed from 20 to 30 kg and only one study using a mice model reported the weight (25–30 g). The average sample

size in selected studies was 40.

Most of the studies (14 studies) were published in the last six years, while six studies were published between 1983 and 2014. In addition, 35% of the studies were conducted in North America (USA, 6 studies; Canada, one study), following by 30% in Europe (Germany, 4 studies; the Netherlands, 2 studies), 30% in Asia (Japan, 3 studies; China, 3 studies) and 5% by South America (Brazil, one study).

The source of mechanical vibration varied among the studies. The devices that were most often used, were a Galileo alternating model 25% (5 studies) and an electromagnetic vibration motor set by a power amplifier 20% (4 studies). Also, custom types of platforms were used for WBV intervention (20%, 4 studies). Regarding to study design, most of the studies (80%, 16 studies) decided for a chronic protocol with WBV, while 20% (4 studies) for an acute protocol. Furthermore, 50% of the studies (10 studies) used a fixed frequency in WBV exposure, while the other 50% (10 studies) decided for variable frequency. In addition, 60% (12 studies) of the protocols used only one bout with duration ranged from 5 to 240 min/day, 25% (5 studies) decided for five sequential bouts comprised of 3 min/session, 5% (one study) adopted two bouts with 5 min by session and 5% (one study) decided for fifteen bouts with 1 min per session. The rest time interval adopted between the bouts ranged from 30 s to 1 min 30 s.

None of studies reported which body part received most of the vibrations. Also, the behavior (next to the body position) of the animals during vibration was not mentioned, it is relevant to report whether all parts of the body receive the vibration to a comparable degree and level.

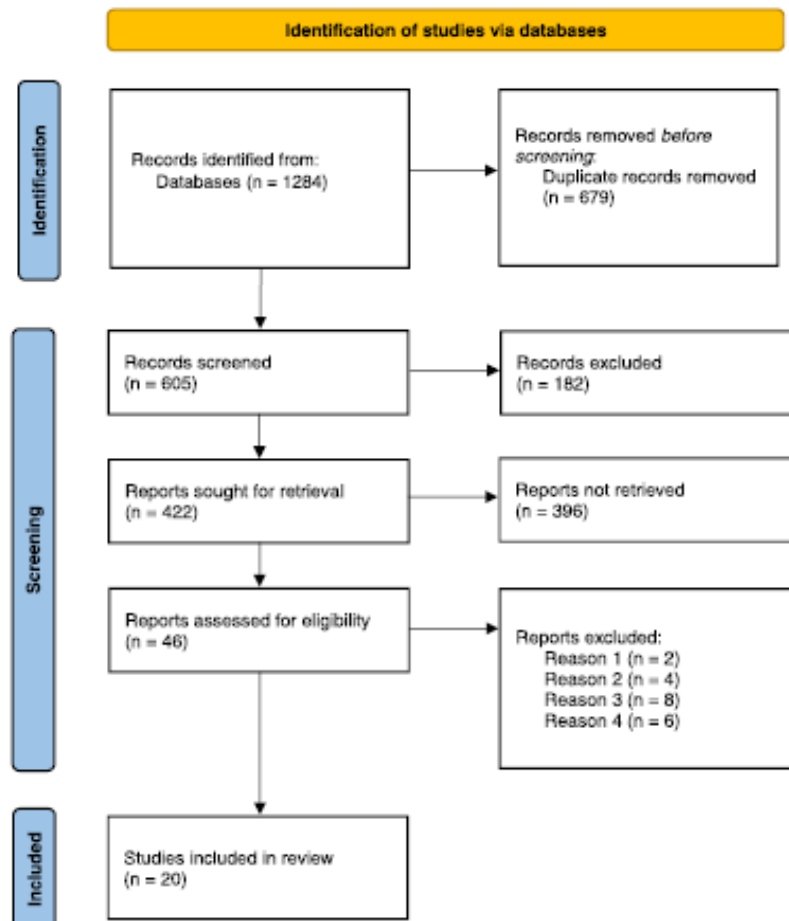


Fig. 1. Flow chart of study selection process based on PRISMA guidelines.

Table 1
Summary of in vivo experimental studies investigating the effects of WBV on brain and behaviour.

Authors	Species	Aim	WBV device	WBV variables	Period (days a week) Duration of bouts	Study design	Country
[93]	Male Wistar rats (n = 53)	To evaluate the morphometric and functional effects of WBV in an experimental nerve regeneration model	TBS 100 – asipral vertical model	f: 15,30 Hz/ A: peak: 0.9, 3.6 g	5-Weeks (5 days) 5 bouts: - 3 min = 1 min (15 Hz) and 2 min (30 Hz)	Chronic - Naïve group (n = 10) - Sham-operated group (n = 10) - Non-trained group (n = 11) - Vibration group 3d (n = 11) - Vibration group 10d (n = 11)	Brazil
[67]	Male Sprague-Dawley rats (n = 18)	To examine the effects of WBV training on a chronic restraint stress (CRS) induced depression rat model and provide an initial understanding of related molecular mechanisms	ZB - alternating model	f: 30 Hz/ A: 4.5 mm	8-Weeks (6 days) 1 bout: - 30 min	Chronic - Control group (n = 5) - CRS group (n = 6) - CRS+WBV group (n = 7)	China
[77]	Male C57BL/6 J mice (n = 20)	To evaluate effects of WBV on brain functioning	Oscillator and Power amplifier	f: 30 Hz/ A: 0.0537 mm	5-Weeks (5 days) 1 bout: - 10 min	Chronic - pseudo WBV group (n = 10) - WBV group (n = 10)	Netherlands
[62]	Female Sprague-Dawley rats (n = 15)	To verify efficacy of WBV in reducing post-ischemic stroke frailty and brain damage in reproductively senescent female rats	Galileo – vertical model	f: 40 Hz/ A: peak: 0.3 g	30 days (5 days) 2 bouts: - 15 min	Chronic - No-WBV group (n = 8) - WBV group (n = 7)	United States
[8]	Male Sprague-Dawley rats (n = 115)	To determine effects of daily WBV on behavioral performance, brain structure, and neurogenesis after cerebral ischemia	N/A	f: 15 Hz/ A: 1.9 mm	4-Weeks (5 days) N/A	Chronic - Control group (n = 50) - Sham group (n = 15) - WBV group (n = 50)	China
[38]	Female Wistar rats (n = 52)	To evaluate effects of WBV on locomotor and bladder functions and the influences on synaptic plasticity following spinal cord injury (SCI) in rats	Galileo - alternating model, custom device for rats	f: 15,30 Hz/ A: 1.5 mm	12-Weeks (5 days) 5 bouts: - 3 min = 1 min (15 Hz) and 2 min (30 Hz)	Chronic - Intact animals (n = 5) - SCI Control group (n = 8) - WBV-day1 (n = 9) - WBV-day7 (n = 8) - WBV-day14 (n = 9) - WBV-day28 (n = 5) - 2xWBV-day14 (n = 7) - PFE group (n = 50)	Germany
[78]	Male CD1 Mice (n = 40)	To verify effects of WBV long-term exposure on attention and motor performance in mice.	Oscillator and Power amplifier	f: 30 Hz/ A: 1.9 mm	5-Weeks (5 days) 1 bout: - 5 min (30 Hz) - 30 min (30 Hz)	Chronic - Pseudo-WBV 5 min (n = 12) - WBV 5 min (n = 12) - Pseudo-WBV 5 min (n = 10) - WBV 30 min (n = 10)	Netherlands
[58]	Male Holtzman rats (n = 18)	To evaluate effects of different WBV exposures on hind paw behavioral sensitivity and neuroinflammation in the lumbar spinal cord.	SmartShaker™ with Integrated Power Amplifier	f: 0,15 Hz/ A: 1.5, 5 mm	5-Weeks (5 days) 1 bout:	Chronic - Sham control group (n = 6)	United States

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Authors	Species	Aim	WBV device	WBV variables	Period (days a week) Duration of bouts	Study design	Country
[73]	Female Wistar rats (n = 80)	To determine effects of WBV on various aspects of the musculo-skeletal system over a 12-week period following compression SCI	Galileo - alternating model, custom device for rats	f: 15,30 Hz/ A: 1.5 mm	- 30 min 5-Weeks (5 days) 5 bouts: - 3 min = 1 min (15 Hz) and 2 min (30 Hz)	- WBV 8 Hz (n = 6) - WBV 15 Hz (n = 6) Acute and Chronic - Intact animals (n = 5) - SCI Control group (n = 8) - WBV-day1 (n = 9) - WBV-day7 (n = 8) - WBV-day14 (n = 9) - WBV-day28 (n = 5) - PFE group (n = 50)	Germany
[90]	Female miniature Yucatan pigs	To investigate consequences of resonance vibration on the injured spinal cord.	Electromechanical shaker	f: 5, 6.6 Hz	12-Weeks 1 bout: - 90 min (5–6.6 Hz) - 180 min (5–6.6 Hz)	Chronic - Control group (n = 12) - 1.5 h resonance vibration group (n = 8) - 3 h resonance vibration group (n = 8)	Canada
[92]	Male Sprague-Dawley rats (n = 72)	To evaluate effects of WBV for long periods on brain function.	Electromagnetic vibration motor set by a power amplifier	f: 30 Hz/ apeak: 0.5 g	2–8-Weeks (5 days) 1 bout: - 240 min	Chronic - 2-week control group (n = 8) - 2-week sham group (n = 8) - 2-week WBV (n = 8) - 4-week sham (n = 8) - 8-week sham (n = 8) - 8-week WBV (n = 8) - 8-week WBV 4 F-Pre (n = 8)	United States
Yan et al ^b , 2015	Male Sprague-Dawley rats (n = 56)	To explore pathological process of the brain injury and cellular mechanism of WBV, and investigating the pathological process and evidence of human brain injury from WBV	Electromagnetic vibration motor set by a power amplifier	f: 30 Hz/ apeak: 0.5 g	2–8-Weeks (5 days) 1 bout: - 240 min	Chronic - 2-week control group (n = 8) - 2-week sham group (n = 8) - 2-week WBV (n = 8) - 4-week sham (n = 8) - 4-week WBV (n = 8) - 8-week sham (n = 8) - 8-week WBV (n = 8)	United States
[74]	Female Wistar rats (n = 19)	To determine effects of WBV on functional, electrophysiological and morphological measurements after SCI	Galileo - alternating model, custom device for rats	f: 15,30 Hz/ A: 1.5 mm	12-Weeks (5 days, twice a day) 5 bouts:	Chronic - Intact animals (n = 7) - SCI No-WBV (n = 6)	Germany

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Authors	Species	Aim	WBV device	WBV variables	Period (days a week) Duration of bouts	Study design	Country	try
						- WBV-30 Hz (n = 4) - Control group (n = 4) - WBV-0.4 G (n = 4) (20 Hz) - WBV-2 G (n = 4) (20 Hz) - WBV-5 G (n = 4) (20 Hz)		

f, frequency (Hz); A, amplitude (mm); apeak, peak acceleration in multiple of Earth's gravity (g); N/A, not available; MPTP, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; WBV, whole-body vibration; PFE - passive flexion-extension.

of exercise efficiency should be stressed, and this aspect is mentioned in the recent WBV reporting guidelines of van Heuvelen et al., [42].

3.3. Risk of bias

The result of the quality assessment is shown in Fig. 2. None of the studies fulfilled all criteria. Concerning selection bias, the sequence generation process was not fully reported in 35% (7 studies) studies (Q1). In terms of animals' similarity to one another (Q2), 10% of the studies (2 studies) did not report this information clearly. Information about the allocation concealment (Q3) was not clearly reported in 90% of the studies (18 studies). Only 30% of the studies (6 studies) reported a random animal housing (Q4). 20% of the studies (4 studies) reported blinding of personnel (Q5). Random selection for outcome assessment (Q6) was applied to 20% (4 studies) of the studies. Only 30% of the studies reported blinding of outcome assessment (Q7). Incomplete outcome data (Q8) were addressed as unclear by the reviewers because the studies did not meet all questions from this topic (100%, all 20 studies).

Selective reporting (Q9) shows a low risk of in all studies. An important source of bias was the lack of information about animal models' age such as the body weight of the mice species used (Q10). In blinding of personnel (Q5). Random selection for outcome assessment (Q6) was applied to 20% (4 studies) of the studies. Only 30% of the studies reported blinding of outcome assessment (Q7). Incomplete outcome data (Q8) were addressed as unclear by the reviewers because the studies did not meet all questions from this topic (100%, all 20 studies).

Selective reporting (Q9) shows a low risk of in all studies. An important source of bias was the lack of information about animal models' age such as the body weight of the mice species used (Q10). In addition, 12 studies did not report whether the incomplete outcome data were adequately addressed and details of the sample size calculation as well, which was unclear to decide as a low or high risk of bias (Q10). Also, the analysis of the individual studies found a possible relation between risk of the bias and year of publication, as shown in Fig. 3.

3.4. Main findings

Regarding to chronic effects, after 1–12 weeks of WBV exercise, were observed a substantial number of findings that are considered favorable for WBV application, as summarized in Table 2. For sensorimotor parameters, WBV exercise increased motor performance [67,77–79] (Peng, Boerema, Keijser, Mettlach), isometric force production in semitendinosus skeletal muscle [79], improved animals' coordination and muscle strength of the upper limbs post-ischemia [58] and decreased fatiguing effects of intensive synaptic muscle stimulation [79]. Concerning behavioral changes, the parameters evaluated such as latency to fall off the rotarod post-ischemia [58] and recognition memory [78] showed an improvement, while the behavioral sensitivity through the withdrawal threshold in response to WBV [58] and arousal activity measures showed a decrease [77], all compared to the respective control groups.

Regarding the brain functioning parameters in cerebral ischemia models, an increased level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and functional activity after middle cerebral artery occlusion was observed [62]. Also, after ischemia the number of bromodeoxyuridine-positive (BrdU+) cells at 3- to 14-days was increased [58]. Furthermore, in spinal cord injury models [38,59,72–74], withdrawal threshold in response to WBV [58] and arousal activity measures showed a decrease [77], all compared to the respective control groups.

Regarding the brain functioning parameters in cerebral ischemia models, an increased level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and functional activity after middle cerebral artery occlusion was observed [62]. Also, after ischemia the number of bromodeoxyuridine-positive (BrdU+) cells at 3- to 14-days was increased [58]. Furthermore, in spinal cord injury models [38,59,72–74, 90], WBV generated increased activation of microglia, macrophages, and astrocytes in the superficial dorsal horn of the lumbar spinal cord. Levels of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation increased in neurons and astrocytes of the dorsal horn at WBV 8 Hz, and it caused denser capillary network and vascularization. WBV also increased the synaptophysin levels in response to 7 days and 14 days of

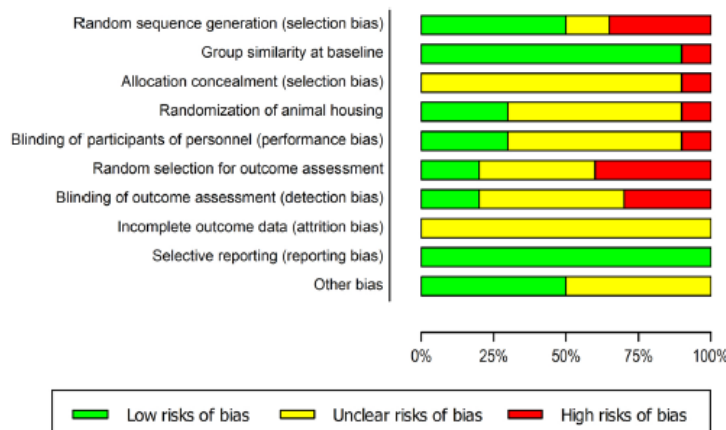


Fig. 2. Results of the risk of bias and methodological quality indicators for all included studies in this systematic review that evaluated the effect of WBV treatment on brain and behaviour in experimental models. The items in the Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE). Risk of Bias assessment were scored with 'yes' indicating low risk of bias, 'no' indicating high risk of bias, or 'unclear' indicating that the item was not reported, resulting in an unknown risk of bias.

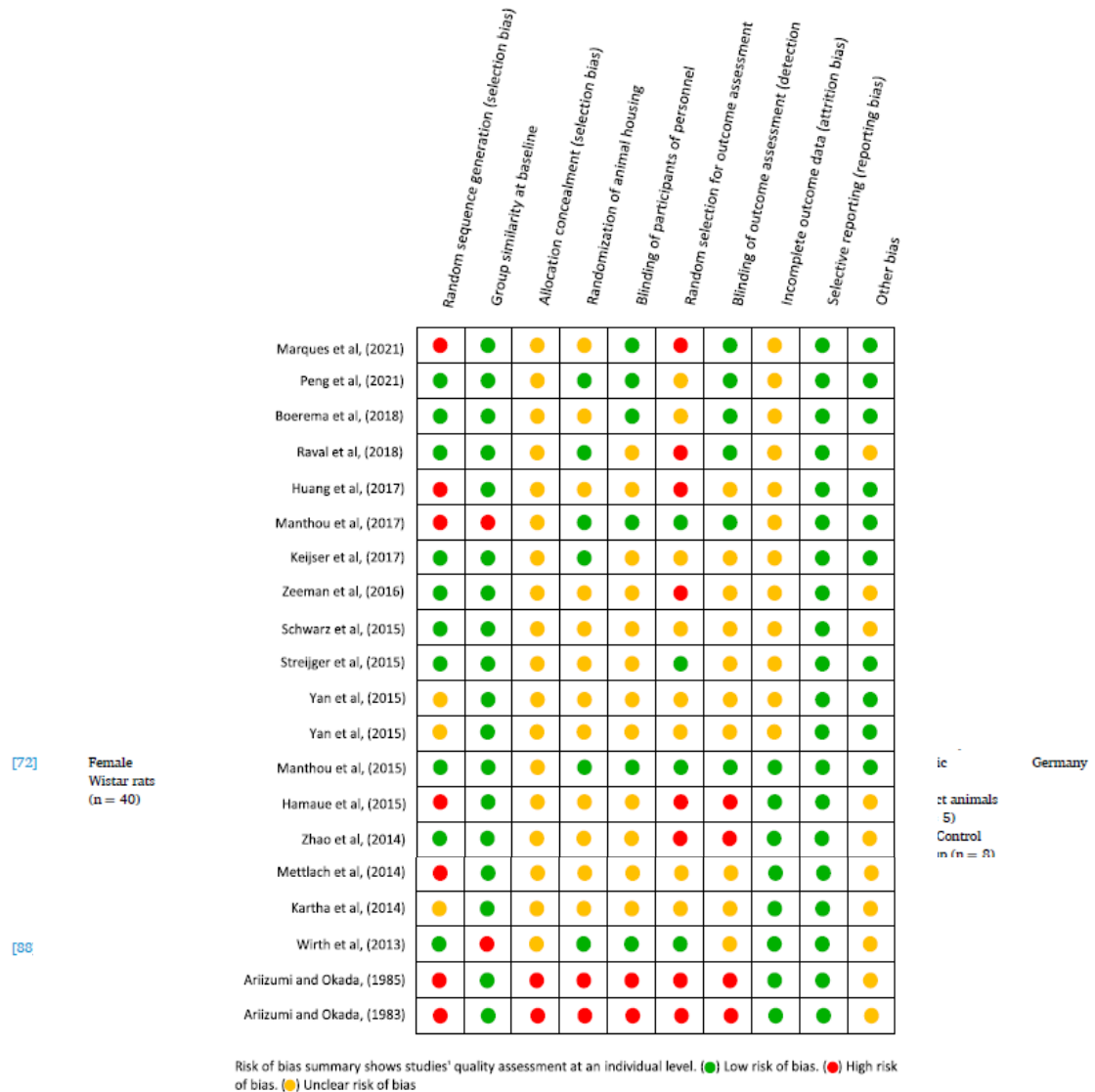


Fig. 3. Risk of bias summary shows studies' quality assessment at an individual level. (green) Low risk of bias. (red) High risk of bias. (yellow) Unclear risk of bias.

WBV exposure and restored the density of synaptic terminals in the lumbar spinal cord at 12 weeks. Additionally, in an experimental model of PD (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-MPTP) [67], WBV increased the number of dopaminergic neurons in the substantia nigra, as well as the levels of dopamine and the contents of BDNF in the striatum. In the CRS model [69], WBV improved motor and exploratory behavior as well as depression-like behaviors. Also, vibration training ameliorated spatial memory deficits after the induction of CRS and WBV [89] increased CRS-induced downregulation of BDNF and IGF-1 proteins. Moreover, WBV reduced microglial activation and diminished CRS-induced hippocampal neuronal degeneration and reduced the activation of the apoptotic pathway. Likewise, WBV inhibited CRS-induced downregulation of dendritic and synaptic proteins.

On other hand, long-term protocols conducted in healthy animals [91,92] to investigate whether WBV caused cumulative brain injury and impairment of the cerebral function. WBV led to injuries in peripheral nervous functional effects, indicating that as longer the vibration period, more severe the injury. In turn, evidenced by increased concentration of blood NO, cerebral edema and vacuoles in the brain arteries after 8-week vibration. Furthermore, WBV decreased blood supply to the brain, as well concentration of blood O₂- and mean neuron size.

In relation to the acute effects, WBV application induced an increased concentration of serotonin in the cortex at 20 Hz WBV [88]. Both serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) levels were increased in the brain as the vibration acceleration was increased (2.0–5.0 g) [89]. Moreover, the vibration induced an increase in plasma

Table 2
Summary effects of WBV on brain and behaviour parameters in animals models.

Authors	Parameters evaluated	WBV outcomes
[93]	- Sciatic Functional Index (SFI) (locomotor performance) - Horizontal Ladder Rung Walking Test (HLRWT) (sensorimotor) - Narrow Beam Test (NBT) (balance performance) - Morphometric analysis (distal portion, peripheral and central of the right sciatic nerve)	↑ partial functional recovery (SFI) ($p < 0.05$) ^a
[67]	- Body weight growth rate - Sucrose preference test (depression-like behavior) - Open field test (locomotor and exploratory behavior) - Elevated plus maze test (anxiety-like behavior) - Barnes maze test (spatial learning and memory) - Force swim test (depression-like behavior) - Immunofluorescence staining (anti-synaptophysin and spinophilin, anti-Map2, anti-Iba1, GFAP, Anti-Caspase-3, Anti-Caspase-9, Anti-IGF 1 and Anti-BDNF)	↑ food intake and body weight growth rate ($p < 0.05$) ^{a,c} ↓ CRS-induced depression-like behaviors ($p < 0.05$) ^{a,c} ↑ improves motor and exploratory behavior ($p < 0.05$) ^{a,c} ↑ ameliorated spatial memory deficits after CRS-induced ($p < 0.05$) ^b ↓ CRS-induced hippocampal neuronal degeneration and activation of the apoptotic pathway ↓ CRS-induced pathological changes of glial cells ↓ CRS-induced downregulation of dendritic and synaptic proteins ↑ CRS-induced downregulation of BDNF and IGF-1 proteins
[77]	- Balance beam (motor performance) - Arousal-induced home cage activity (behavior) - Brain glucose uptake	↑ motor performance ($p < 0.05$) ^a ↓ arousal-induced home cage activity ($p < 0.05$) ^a
[62]	- Neurodeficit scoring - Motor deficit test - Immunoblot analysis (caspase-1, caspase recruitment domain-ASC, Immunoblot of brain-derived neurotrophic factor-BDNF and Tropomyosin receptor kinase-TrkB)	↓ inflammatory markers ($p < 0.05$) ^a ↓ infarct volume ($p < 0.05$) ^a ↑ brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ($p < 0.05$) ^a ↑ functional activity after tMCAO ($p < 0.05$) ^a
[8]	- Modified Neurological Severity Score (mNSS) - Rotarod Test - Necrotic dark shrunken neurons analysis - Double-fluorescence and immunohistochemistry - Western blotting (rabbit anti-DCX, goat anti-GFAP, chicken anti-MAP2, rabbit anti-β-actin)	↑ animals' coordination from 14d to 28d post-ischemia ($p < 0.05$) ^a ↑ muscle strength of the upper limbs at 21d and 28d post-ischemia ($p < 0.05$) ^a ↑ latency to fall off the Rotarod in WBV at 21d and 28d post-ischemia ($p < 0.05$) ^a ↑ number of bromodeoxyuridine-positive (BrdU+) cells at 3d ($p < 0.05$) and 14d ($p < 0.001$) and BrdU+ /nestin+ cells at 14d ($p < 0.01$) after ischemia. ↑ numbers of BrdU+ / NeuN+ cells at 21d and 28d after ischemia ($p < 0.001$) ^a
[38]	- Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) rating scale, foot-stepping angle (FSA) and rump-height index (RHI) (locomotor performance) - Bladder function - Spinal cord lesion volume - Immunohistochemistry and immunohistochemical analysis (Synaptophysin, glial fibrillary acidic protein-GFAP, monoclonal Iba1 antibody-Iba1)	↑ BBB score recovery in the WBV7 and WBV14 groups (temporary) ($p < 0.05$) ^a ↑ RHI in the WBV14 and PFE groups ($p < 0.05$) ^a ↑ Bladder function in the WBV14, WBV20, 2 × WBV and PFE groups ($p < 0.05$) ^a ↑ Synaptophysin levels in response to WBV7 and WBV14 ($p < 0.05$) ↑ Iba1 expression ($p < 0.05$) ^a
[78]		

Table 2 (continued)

Authors	Parameters evaluated	WBV outcomes
	- Novel object recognition and Spatial object recognition test (attention) - Balance beam test (motor performance)	↑ motor performance in the WBV5 min ($p < 0.05$) ^a ↑ novel object recognition in the WBV5 min ($p < 0.01$) ^a
[58]	- Withdrawal threshold measure in the bilateral hind paws (behavioral sensitivity) - Immunohistochemical (GFAP, Iba1, Neuronal nuclei and phosphorylated-ERK, p-ERK)	↓ the withdrawal threshold through WBV 8 Hz group ↑ activation of microglia, macrophages, and astrocytes in the superficial dorsal horn of the lumbar spinal cord in WBV 8 Hz group ↑ extracellular signal-regulated kinase (ERK)-phosphorylation in neurons and astrocytes of the dorsal horn at WBV 8 Hz group No influence of WBV treatment
[73]	- BBB rating scale, beam walking test, ladder climb test (locomotor tests) - Spinal cord lesion volume - Extent of white matter sparing evaluated in lesion site - Morphological changes in the soleus muscle - Morphological changes in the femur (X-ray, densitometry, histological examination)	
[90]	- Cerebrospinal fluid collection - Porcine Thoracic Injury Behavior Scale - PTIBS (hindlimb motor function)	No influence of WBV treatment
	- Enzyme-linked immunosorbent assay (interleukin 6-IL-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 and GFPA) - Immunohistochemistry (quantification of white and gray matter sparing)	
[92]	- Maze test (behavior observation) - Tail-Flick: thermometric sensory test; Von Frey filament test (sensory tests) - Grip-Strength test (motor function) - Blood flow volume measurement - Neuronal pathological analysis (general observation of the sections of cortex; necrotic dark shrunken neuron (DGN) counting; neuronal nuclei area) - Superoxide anions (O_2^-) and Nitric oxide (NO) measurements (Molecular changes)	↑ injuries to peripheral nervous functional in WBV groups, in addition, indicated that the longer the vibration term, the more severe the injury. ($p < 0.05$) ^a ↓ blood supply to the brain ($p < 0.05$) ^a ↑ shrunken neuron in 8-week WBV group ($p < 0.05$) ^a ↓ concentration of blood O_2 ($p < 0.05$) ^a ↑ concentration of blood NO ($p < 0.05$) ^a
[91, 92] ^b	- Maze test (behavior observation) - Nerve conduction velocity; Tail-Flick: thermometric sensory test; Von Frey filament test (sensory tests) - Grip-Strength test (motor function) - Neuronal pathological analysis (general observation of the sections of cortex; DGN counting; neuronal nuclei area) - O_2^- and NO measurements (Molecular changes)	↑ vacuoles in the brain arteries after 8-week vibration ($p < 0.05$) ^a ↓ mean neuron size ($p < 0.05$) ^a ↑ shrunken neuron after 8-week vibration ($p < 0.05$) ^a ↑ cerebral edema ($p < 0.05$) ^a
[74]	- BBB rating scale, Single-frame motion analysis (SFMA), Beam walking, Ladder climbing test, Hoffmann reflex (H-reflex) recordings (locomotor assessment) - Density of functioning capillaries (specific antibodies - anti-rat PECAM-1, anti-mouse Collagen Type IV, anti-porcine CD31, anti-rat RECA)	↑ denser capillary network in the WBV-treated rats ($p < 0.001$) ^a ↑ vascularization in the WBV-treated rats ($p < 0.001$) ^a
[68]		↓ PWR to the 4- and 15-g von Frey filaments. ($p < 0.05$) ^c

(continued on next page)

Table 2 (continued)

Authors	Parameters evaluated	WBV outcomes
[69]	- Paw withdrawal response (PWR) (ipsilateral and contralateral hind paws)	↓ CGRP expression in ipsilateral dorsal horn in Im+Vib1 ($p < 0.05$) ^c
	- Histological analysis of skin	↓ CGRP-positive neurons in ipsilateral dorsal horn in Im+Vib1 ($p < 0.05$) ^c
[79]	- Immunohistological analysis (Calcitonin gene-related peptide-GPR)	↑ the numbers of dopaminergic neurons in the substantia nigra of MPTP mice in LF and HF ($p < 0.01$) ^d
	- Analysis of the number of TH-positive neurons in the substantia nigra	↑ the levels of dopamine in the striatum of MPTP mice in LF and HF ($p < 0.01$) ^d
[87]	- High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of dopamine	↑ increased the contents of BDNF in the striatum of MPTP mice in LF ($p < 0.05$) ^d
	- Immunoassay of BDNF	↑ isometric force production in semitendinosus skeletal muscle in LIV ($p < 0.05$) ^a
[87]	- Isometric tension and electromyogram measurements	↓ the fatiguing effects of intensive synaptic muscle stimulation in LIV ($p < 0.05$) ^a
	- Intracellular recordings	↑ grip strength in LIV ($p < 0.05$) ^a
[87]	- Neuromuscular junction staining	↑ initial motor activity in a novel environment in LIV-treated mice ($p < 0.05$) ^a
	- Wire grid hang; Wire hang; Grip strength; Open field test (behavior assessment)	↑ evoked neurotransmitter release at neuromuscular synapses ($p < 0.05$) ^a
[87]	- Forepaws mechanical withdrawal threshold (behavior assessment)	↑ BDNF and total-NGF mRNA levels in WBV ($p < 0.05$) ^a
	- RT-qPCR; Western blotting (neurotrophin messenger RNA (mRNA) transcript and protein expression quantified)	↑ protein expression of BDNF and the 75-kDa NGF in WBV ($p < 0.05$) ^a
[87]	- Immunohistochemistry (neurotrophin measurement in the outer annulus fibrosus (IAF), and nucleus pulposus (NP) to determine if there are regional changes)	↑ correlation between BDNF mRNA and protein levels with the degree of behavioral sensitivity in WBV group ($p < 0.05$) ^a
		↑ correlation between Total-NGF mRNA and the extent of behavioral sensitivity in WBV ($p < 0.05$) ^a
[72]	- BBB rating scale, SFMA, Beam walking, Ladder climbing test, H-reflex recordings (locomotor assessment).	↑ neurotrophins (BDNF and Total-NGF) in IAF and NP ($p < 0.05$) ^a
	- Bladder function	↑ body weight support (rump-height index) during overground locomotion and overall recovery between 6 and 12 weeks ($p < 0.05$) ^a
[72]	- Spinal cord lesion volume	↑ bladder function at 6–12 weeks after injury ($p < 0.05$) ^a
	- Immunohistochemistry and evaluation of axonal and synaptic terminal densities in the spinal cord	↑ restored the density of synaptic terminals in the lumbar spinal cord at 12 weeks ($p < 0.05$) ^a
[72]	- Motoneuron soma size and quantification of perisomatic puncta.	
	- Fluorescent image analysis of the overall amount of serotonergic fibers and synaptic terminals in the ventral horn (choline acetyltransferase-ChAT, Coexpression of glutamate vesicular transporter-VGLUT1, Synaptophysin)	
[88]	- Bladder weight and histology	
	- Histopathology of the bladder wall	
[88]	- Dissection procedure for brain regions (cerebellum, medulla oblongata, hypothalamus,	↓ the brain concentration of NA when the WBV acceleration was increased to 5.0 G ($p < 0.05$) ^a
		↓ NA decreased only in the

Table 2 (continued)

Authors	Parameters evaluated	WBV outcomes
[89]	- striatum, midbrain, cortex, and hippocampus)	hypothalamus ($p < 0.01$) ^a
	- Fluorometric method for determined noradrenaline (NA), dopamine (DA) and serotonin (5-HT) levels (enzymatic determination)	↑ the concentration of 5-HT in the cortex ($p < 0.05$) ^a
[89]	- Fluorometric method for determined 5-HT, 5-hydroxy-indoleacetic acid (5-HIAA) and plasma corticosterone.	↓ the concentration of 5-HT in the striatum ($p < 0.05$) ^a
		↑ 5-HT and 5-HIAA levels of brain at 20 Hz of WBV ($p < 0.05$) ^a
[89]		↑ plasma corticosterone levels as acceleration increased from 0.4 G to 5.0 G and the frequency was changed from 5 Hz to 30 Hz ($p < 0.05$) ^a
		↑ correlation between brain 5-HT and plasma corticosterone levels ($p < 0.01$) ^a

CRS, Chronic restraint stress; tMCAO, transient middle cerebral artery occlusion; LIV, low intensity vibration

^a compared to control group

^b compared to groups without WBV

^c compared to Im group only

^d compared to MPTP group only

corticosterone levels as acceleration raised from 0.4 g to 5.0 g and the frequency was changed from 5 Hz to 30 Hz WBV [89], considering that as high the peak acceleration, undesirable effects can be observed. A stronger correlation was then found between brain serotonin and plasma corticosterone levels. Also, WBV decreased the concentration of noradrenaline in the brain when the acceleration was raised to 5.0 g, as well as the concentration of serotonin in the striatum [88,89].

4. Discussion

The current study aimed to summarize, in experimental animal models, effects of the WBV exposure on brain and behavior. Preclinical research involving WBV exercise might help to identify beneficial and harmful effects, including the underlying (cellular) mechanism. As such, it can support the formulation of effective and safety training protocols (i.e. optimal WBV settings). The translational importance of animal research in WBV is to aid the treatment of human brain disorders. The transferability of WBV insights from animals to humans should be carefully considered but is generally high as is for example outlined in [59,77]. This systematic review included 20 studies, summarizing and discussing the effects of WBV intervention on brain functioning and behavior in different experimental animal models. Despite the heterogeneity of the studies included in this review, the results primarily suggest beneficial effects of WBV intervention on neurological issues, mainly related to motor function, isometric force, coordination, muscle strength, recognition memory, synaptic plasticity, brain cells activity and molecular changes. However, some harmful effects were reported by severe WBV exposure indicating an impairment of the cerebral function and causes of cumulative brain injury.

Regarding the selected studies, the results demonstrated that the experimental models used were primarily rodents (75% - rats; 20% - mice). This can be related with the general use of these rodents in biomedical research, but also to their relative low cost, accessibility and easy handling. This provides a relatively large number of animals for these researchers, thereby conferring a greater degree of evidence and reliability in their results. In addition, there was a predominant use of male models (62%) compared to the female (38%) in the studies. This could be explained by an investigators' concern, namely that female rodents are more variable in physiology and behavior, in part because the estrous cycle. Also, the use of males and females can reduce statistical power due to the spread of pooled data or smaller subsamples of

each sex [70,71]. Despite these concerns, investigation about WBV intervention in both males and females is important.

Considering the WBV protocol of the included studies there were punctual differences about the device type and variables applied, Table 1 discloses some common features. Firstly, most used WBV frequencies were 15 Hz (44%) and 30 Hz (62%) with low magnitude (0.3 and 0.5 g) vibrations. Secondly, most protocol were long-term, involved three or more training sessions per week, as would be the standard for resistance training. Together, these characteristics indicate a preference for lower frequencies considering training stimulus and smaller vibration magnitude to avoid potential harmful effects [40,73]. Moreover, the duration of bouts of vibration it is also an important variable regarding parameters such as degree of force applied on the body, adaptative and training effects [42]. In line with this notion, most protocols decided for 1–5 bouts/day with time-varying from 3 min to 30 min/per bout (Table 1). In contrast, some studies [89,91,92] designed for evaluate injury effects of WBV, decided in only 1 bout by a long-time exposure (varying from 90 min to 240 min). Furthermore, some studies modeling SCI applied two frequencies and one amplitude, which are within the normal range of motoneuron discharges and are well tolerated by the rats [38,73–75]. Different devices to generate mechanical vibration were used, such as an alternating model [38,62,72–74], a vertical model [62,69,93] and those which used a custom type of platform adapted to generate vibration stimuli in animals models [59, 68,77–79,86–88], which indicates a heterogeneity as for the vibration stimuli model on the selected studies, and can increase its translational value for different clinical approaches.

Concerning the main results of this review, WBV intervention was responsible for several responses such as reduced brain damage post-ischemia, in SCI, and improving neuromuscular and cerebral functioning. Previous studies demonstrated that WBV can produce physiological changes on several levels through stimulating skin receptors, the vestibular system and muscle spindles, which lead to several changes in cerebral activity, such as those in the somatosensory cortex, hippocampus, amygdala and thalamus [76,77]. This is consistent with the results reported by studies included in this review. Two studies [78,79] showed motor performance improvement and attention. In addition, WBV enhanced muscle strength, isometric force production in semitendinosus skeletal muscle and decreased the fatiguing effects of intensive synaptic muscle stimulation [38,80]. Furthermore, WBV improved motor coordination from 14- to 28-days post-ischemia and muscle strength of the upper limbs at 21- and 28-days post-ischemia [61], which corroborates the notion that WBV is known to improve neuromuscular performance [40].

Regarding the behavioral changes, WBV increased latency to fall off the rotarod in post-ischemia models, increased initial motor activity in a novel environment, decreased the withdrawal threshold hind paws, and reduced behavioral arousal induced experimentally [59,61,77,79]. After the ischemia procedure and lumbar spinal cord lesion in rats, 8 Hz and 15 Hz WBV caused hypersensitivity in the hind paw and pain developed early on after exposure [59,61]. Also, WBV produced long-lasting sustained allodynia over 14 days. In fact, only one week of 8 Hz WBV exposure was able to induce continued sensitivity lasting just as long [61]. In addition, 30 Hz WBV improved exploratory behavior in CRS-induced models [67]. Therefore, these behavioral findings suggest that WBV parameters such as frequency, peak to peak displacement and number of exposures play a role in the pain response and depression-like behaviors.

According to brain functioning, WBV revealed a beneficial effect in experimental models for cerebral ischemia and SCI. After ischemia, 40 Hz WBV reduced the levels of pro-inflammatory cytokine interleukin-1, inflammasome proteins (caspase-1, caspase recruitment domain) and increased BDNF and phosphorylated Tropomyosin receptor kinase B (pTrkB) levels in the brain of middle-age female rats [62]. Since BDNF expression is augmented in neurons by various stressors (e.g., ischemia, trauma, hypoglycemia and epilepsy), this chronic exposure confers

neuroprotection [80]. In addition, during the acute phase after ischemia neurogenesis was subtle to mild but enhanced by 15 Hz WBV treatment over a longer period [61]. This suggests the potential of WBV for intensifying neurogenesis when subjects are exposed to mechanical vibration for extended periods. It also supports the hypothesis that the underlying mechanism of WBV action may strongly relate to cumulative effects [58]. These results are also in line with the observation that WBV can improve some aspects of cognitive performance in healthy subjects [80]. A recent study using healthy, aged rats revealed, in a 5-week WBV intervention protocol with low intensity (30 Hz, amplitude 50–200 μ m), a decrease in anxiety level and improved spatial memory, next to improved motor performance [81].

Considering SCI, WBV when started 14 days after the injury provided a restoration of synaptic coverage through the improvement of synaptophysin levels [61]. Furthermore, WBV restored BDNF mRNA levels to normal in the lumbar cord [61,68]. BDNF also increased synaptogenesis [82] and neurogenesis [83,84]. Evidence suggests that the therapeutic efficacy of exercise after SCI may be closely related to BDNF modulation which appears to play a central role in synaptic plasticity [85,86]. WBV also restored the density of synaptic terminals in the lumbar spinal cord at 12 weeks, indicating that synaptic rearrangements in the distal spinal cord might be important for improving body weight support [56,68]. It is also likely that local changes in the vibrated muscles lead to improved performance [58]. Conversely, Zeeman et al., [58] observed that the immune cells in lumbar spinal cord were activated after WBV. Also, although mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling increased (8 Hz WBV), this study demonstrated that this pathway is activated in several cell-types in the superficial dorsal horn of the lumbar spinal cord after WBV, except in microglia. This suggests an increased crosstalk between specifically activated nociceptive neurons, spinal neurons and the inflammatory support cells surrounding these neurons in the dorsal horn.

In addition to molecular changes, the role of BDNF in promoting nerve growth and the important correlations between BDNF expression and pain in animal models support a potential role of WBV in regulating disc pain [87]. Indeed, a statistical correlation between increased BDNF transcript and protein levels in discs exposed to vibration and increased behavioral sensitivity to pain after day 14 of WBV has been shown [38, 87]. It suggests a possible role for WBV through BDNF modulation, increasing neuronal hyperexcitability in spinal dorsal horn. Furthermore, Peng et al. [67] suggest that WBV can alleviate dendritic loss caused by CRS. MAP2 levels were found to be increased after the WBV intervention, and WBV increased hippocampal expression of the synaptic-associated proteins synaptophysin and spinophilin, indicating a role of WBV in enhancing synaptic functioning, which corroborates the observation that WBV prevented the decline of spatial memory, in line with the findings of Regterschot et al. [94] that observed the same improvement by WBV. This functional effect of WBV indicates wide prospects in clinical research.

The current systematic review has some limitations. The search strategy used only studies in English. In addition, the heterogeneity in the selected studies made clear that considerable methodological differences exist among the reviewed studies. The risk of bias and methodological quality assessment showed that many studies failed to establish a consistent methodology to avoid discrepancies, resulting in possible biases. Although, the main tools for risk of bias assessment in animal intervention studies (such as the SYRCLE methodology) were published only in the last decade, it is to be expected that articles prior to this date may not have implemented all aspects mentioned in this protocol. Therefore, considering a systematic review for animal studies with a search strategy including publication dating before –2010, this may automatically represent a possible risk of bias in assessing the methodological quality. The lack of information about the body posture during WBV and which overt behavior was observed during a session is often lacking and hence a potential limitation of the studies because it may affect the efficiency of the intervention.

On the other hand, the strength of this review is the outlining of WBV variables used in the selected studies, and the subsequent analysis in which range these variables would be able to induce a beneficial or detrimental effect. As such, this review lends support for future WBV research with focus on (bio)medical applications related to brain functioning and behaviour.

5. Conclusion

In conclusion, considering the above-described findings, it can be summarized that WBV seems to be a feasible and effective therapy for the treatment of cerebral ischemia and SCI. In addition, it also supports the use of WBV as an intervention for other brain diseases. The main reasons for this conclusion are: (i) the existence of adequate knowledge of WBV parameters to be applied, avoiding harmful effects, (ii) the modulating actions of WBV observed at the level of proteins, enzymes, immune cells, neurons, neurotrophins and neurotrophic factors, (iii) the frequently replicated finding of motor function improvements, neuromuscular activity and behavioral sensitivity by WBV, (iv) and indications of recovery or strengthening of certain brain functions. WBV may therefore represent an interesting intervention for clinical studies. Future studies need to provide more insight in the mechanisms that underlie the beneficial effects of WBV. This insight will stimulate the use of WBV as an intervention in a clinical perspective and it can be considered to be used as an alternative for physical activity protocols or combined with it, aiming to improve behavioural and cognitive deficits as seen in many brain disorders.

Author contribution

André Cardoso was responsible for the systematic selection of the publications, data extraction from the full-text version of the publications, the risk of bias assesses, and he drafts the manuscript. Danúbia Sá-Caputo and Nasser Asad helped on the systematic selection of the publications. Marieke van Heuvelen and Anderson Ribeiro-Carvalho helped on the data extraction from the full-text version of the publications. Anderson Ribeiro-Carvalho also helped on the risk of bias assess. Eddy van der Zee and Marieke van Heuvelen helped on the draft of manuscript. Mario Bernardo-Filho coordinated the study and helped on the draft of the manuscript.

Acknowledgements

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brazil, CAPES [grant finance code 001]; Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Declaration Of Competing Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest associated with this publication.

References

- [1] Global Burden of Disease Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 18, 2019, pp. 459–480. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).
- [2] W.M. Carroll, The global burden of neurological disorders, *Lancet Neurol.* 18 (2019) 418–419. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30029-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30029-8).
- [3] M. Prince, G.C. Ali, M. Guerchet, A.M. Prina, E. Albanese, Y.T. Wu, Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia, *Alzheimers Res. Ther.* 8 (2016) 23. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0188-8>.
- [4] J.O. Ojo, B.C. Mouzon, F. Crawford, Repetitive head trauma, chronic traumatic encephalopathy and tau: challenges in translating from mice to men. *Exp. Neurol.* 275 (2016) 399–404. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.06.003>.
- [5] B.K. Kwon, O. Bloom, I.B. Wanner, A. Curt, J.M. Schwab, J. Fawcett, K.K. Wang, Neurochemical biomarkers in spinal cord injury, *Spinal Cord.* 57 (2019) 819–831. <https://doi.org/10.1038/s41393-019-0319-8>.
- [6] P.H. Lipkin, M.M. Macias, Promoting optimal development: identifying infants and young children with developmental disorders through developmental surveillance and screening, *Pediatrics* 145 (2020), e20193449. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3449>.
- [7] A. Abeliovich, A.D. Gidder, Defects in trafficking bridge Parkinson's disease pathology and genetics, *Nature* 539 (2016) 207–216. <https://doi.org/10.1038/nature20414>.
- [8] W. Huang, Z. Li, L. Zhao, W. Zhao, Simvastatin ameliorates memory deficits and inflammation in clinical and mouse model of Alzheimer's disease via modulating the expression of miR-106b, *Biomed. Pharmacother.* 92 (2017) 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.060>.
- [9] A.M. Kelly, Exercise-induced modulation of neuroinflammation in models of Alzheimer's disease, *Brain Plast.* 4 (2018) 81–94. <https://doi.org/10.3233/BPL-180074>.
- [10] J. Vry, J.J. Schubert, O. Semler, V. Haug, E. Schöna, J. Kirschner, Whole-body vibration training in children with Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy, *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 18 (2014) 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2013.09.005>.
- [11] S.J. Tabrizi, R. Ghosh, B.R. Leavitt, Huntingtin lowering strategies for disease modification in Huntington's disease, *Neuron* 101 (2019) 801–819. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.039>.
- [12] E. Aronica, S. Bauer, Y. Bozzi, M. Caleo, R. Dingledine, J.A. Gorter, J.P. Louboutin, Neuroinflammatory targets and treatments for epilepsy validated in experimental models, *Epilepsia* 58 (2017) 27–38. <https://doi.org/10.1111/epi.13783>.
- [13] A.A. Moustafa, J. Phillips, S. Keri, B. Misiak, D. Frydecka, On the complexity of brain disorders: a symptom-based approach, *Front. Comput. Neurosci.* 10 (2016) 16. <https://doi.org/10.3389/fncom.2016.00016>.
- [14] R. Hussain, H. Zubair, S. Pursell, M. Shahab, Neurodegenerative diseases: regenerative mechanisms and novel therapeutic approaches, *Brain Sci.* 8 (2018) 177. <https://doi.org/10.3390/brainsci8090177>.
- [15] T. Vos, C. Allen, M. Arora, R.M. Barber, Z.A. Bhutta, A. Brown, M. Coggeshall, Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015, *Lancet* 388 (2016) 1545–1602. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31678-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31678-6).
- [16] W. Lange, O. Tucha, Good vibrations—effects of whole body vibration on attention in healthy individuals and individuals with ADHD, *PLoS One* 9 (2014), e90747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090747>.
- [17] P.Y. Pang, G.H. Wee, M.J. Huang, A.E. Hoo, I.M.T. Sherif, S.L. Lim, K.L. Kerk, Therapeutic hypothermia may improve neurological outcomes in extracorporeal life support for adult cardiac arrest, *Heart Lung Circ.* 26 (2017) 817–824. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2016.11.022>.
- [18] S.A. Patten, D. Aggad, J. Martinez, E. Tremblay, J. Pettilo, G.A. Armstrong, X. Y. Wen, Neuroleptics as therapeutic compounds stabilizing neuromuscular transmission in amyotrophic lateral sclerosis, *JCI Insight* 2 (2017), e97152. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.97152>.
- [19] Ö. Saatçi, N.H. Yılmaz, A. Zurb, B. Yulug, The therapeutic effect of deep brain stimulation on olfactory functions and clinical scores in Parkinson's disease, *J. Clin. Neurosci.* 68 (2019) 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.07.055>.
- [20] G. Van Dijk, S. van Heijningen, A.C. Reijne, C. Nyakas, E.A. van der Zee, U.L. Eisel, Integrative neurobiology of metabolic diseases, neuroinflammation, and neurodegeneration, *Front. Neurosci.* 9 (2015) 173. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00173>.
- [21] H. Wang, X. Zhou, L. Wu, G. Liu, W. Xu, X. Zhang, J. Wang, Aucubin alleviates oxidative stress and inflammation via Nrf2-mediated signaling activity in experimental traumatic brain injury, *J. Neuroinflamm.* 17 (2020) 188. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01863-9>.
- [22] B. Decourt, D.K. Lahiri, M.N. Sabbagh, Targeting tumor necrosis factor alpha for Alzheimer's disease, *Curr. Alzheimer Res.* 14 (2017) 412–425. <https://doi.org/10.2174/1567205013666160930110551>.
- [23] Q. Li, X. Han, X. Lan, Y. Gao, J. Wan, F. Durham, M. Ying, Inhibition of neuronal ferroptosis protects hemorrhagic brain, *JCI Insight* 2 (2017), e90777. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.90777>.
- [24] F. Pohl, P.K.T. Lin, The potential use of plant natural products and plant extracts with antioxidant properties for the prevention/treatment of neurodegenerative diseases: in vitro and clinical trials, *Molecules* 23 (2018) 3263. <https://doi.org/10.3390/molecules23123263>.
- [25] K.M. Hawkins, A.I. Goyal, L.E. Sergio, Diffusion tensor imaging correlates of cognitive-motor decline in normal aging and increased Alzheimer's disease risk, *J. Alzheimers Dis.* 44 (2015) 867–878. <https://doi.org/10.3233/JAD-142079>.
- [26] J.S. Williams, L.E. Egede, The association between multimorbidity and quality of life, health status and functional disability, *Am. J. Med. Sci.* 352 (2016) 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2016.03.004>.
- [27] A. Qaseem, V. Snow, J.T. Cross Jr., M.A. Forciea, R. Hopkins Jr, P. Shekelle, P. Santaguida, Current pharmacologic treatment of dementia: a clinical practice guideline from the American College of Physicians and the American Academy of Family Physicians, *Ann. Intern. Med.* 148 (2008) 370–378. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-148-5-200803040-00008>.
- [28] J.T. O'Brien, C. Holmes, M. Jones, R. Jones, G. Livingston, I. McKeith, E. L. Sampson, Clinical practice with anti-dementia drugs: a revised (third) consensus statement from the British Association for Psychopharmacology.

- J. Psychopharmacol. 31 (2017) 147–168, <https://doi.org/10.1177/0269811116680924>.
- [29] S. Belleville, F. Clement, S. Mella, B. Gilbert, F. Fontaine, S. Gauthier, Training-related brain plasticity in subjects at risk of developing Alzheimer's disease, *Brain* 134 (2011) 1623–1634, <https://doi.org/10.1093/brain/awr037>.
- [30] S. Corbiano, G. Cavallini, G. Baldereschi, M.C. Carboncini, F.L. Flamingo, P. Bongioanni, M. Dini, Whole body vibration and treadmill training in Parkinson's disease rehabilitation: effects on energy cost and recovery phases, *Neurol. Sci.* 39 (2018) 2159–2168, <https://doi.org/10.1007/s10072-018-3566-0>.
- [31] J.A. Blumenthal, P.J. Smith, S. Mabe, A. Hinderliter, P.H. Lin, L. Liao, J.R. Burke, Lifestyle and neurocognition in older adults with cognitive impairments: a randomized trial, *Neurology* 92 (2019) e212–e223, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006784>.
- [32] K. Toba, Y. Nakamura, H. Endo, J. Okochi, Y. Tanaka, C. Inaniwa, H. Hirakawa, Intensive rehabilitation for dementia improved cognitive function and reduced behavioral disturbance in geriatric health service facilities in Japan, *Geriatr. Gerontol. Int.* 14 (2014) 206–211, <https://doi.org/10.1111/ggi.12080>.
- [33] A.R. Alashram, E. Padua, G. Annino, Effects of whole-body vibration on motor impairments in patients with neurological disorders: a systematic review, *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* 98 (2019) 1084–1098, <https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000001252>.
- [34] Y. Shigihara, H. Hoshi, K. Shinada, T. Okada, H. Kamada, Non-pharmacological treatment changes brain activity in patients with dementia, *Sci. Rep.* 10 (2020) 1–9, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63881-0>.
- [35] G. Siciliano, L. Chio, A.L. Gerfo, C. Simoncini, E. Schirini, G. Ricci, Exercise-related oxidative stress as mechanism to fight physical dysfunction in neuromuscular disorders, *Front Physiol.* 11 (2020) 451, <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00451>.
- [36] K.H. Chen, H.H. Chen, L. Li, H.C. Lin, C.L. Chen, N.C. Chen, The impact of exercise on patients with dementia: a 2-year follow-up, *Medicine* 99 (2020), e20597, <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020597>.
- [37] E. Duzel, H. van Praag, M. Sendtner, Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain* 139 (2016) 662–673, <https://doi.org/10.1093/brain/aww407>.
- [38] M. Manthou, D.S.Y. Abdulla, S.P. Pavlov, R. Jansen, H. Bendella, K. Nohroudi, Y. Behram Kademir, M. Manthou, K. Nohroudi, S. Moscarino, F. Rehberg, G. Stein, R. Jansen, D.N. Angelov, Whole body vibration (WBV) following spinal cord injury (SCI) in rats: timing of intervention, *Restor. Neurol. Neurosci.* 35 (2017) 185–216, <https://doi.org/10.3233/RNN-160691>.
- [39] N.L. Campbell, A.J. Perkins, S. Gao, T.C. Skaar, L. Li, H.C. Hendrie, M.A. Boustani, Adherence and tolerability of Alzheimer's Disease medications: a pragmatic randomized trial, *J. Am. Geriatr. Soc.* 65 (2017) 1497–1504, <https://doi.org/10.1111/jgs.14827>.
- [40] J. Rütveger, Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be, *Eur. J. Appl. Physiol.* 108 (2010) 877–904, <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1482-7>.
- [41] D. Bembes, C. Stark, R. Taiar, M. Bernardo-Filho, Relevance of whole-body vibration exercises on muscle strength/power and bone of elderly individuals, *Dose Response* 16 (2018), <https://doi.org/10.1177/1559325818813066>.
- [42] M.J. van Heuvelen, J. Rütveger, S. Judex, B. Sañudo, A. Seixas, A.B.M. Fuernmaier, O. Tucha, C. Nyakas, P.J. Marin, R. Taiar, C. Stark, E. Schoenau, D.C. Sá-Caputo, M. Bernardo-Filho, E.A. van der Zee, Reporting guidelines for whole-body vibration studies in humans, animals and cell cultures: a consensus statement from an international group of experts, *Biology* 10 (2021) 965, <https://doi.org/10.3390/biology10100965>.
- [43] A. Wuestefeld, A.B. Fuernmaier, M. Bernardo-Filho, D. da Cunha de Sá-Caputo, J. Rütveger, E. Schoenau, R. Taiar, Towards reporting guidelines of research using whole-body vibration as training or treatment regimen in human subjects - a Delphi consensus study, *PLoS One* 15 (2020), e0235905, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235905>.
- [44] T.S. Kaeding, A. Karch, R. Schwarz, T. Flor, T.C. Wittke, M. Kück, L. Stein, Whole-body vibration training as a workplace-based sports activity for employees with chronic low-back pain, *Scand. J. Med. Sci. Sport* 27 (2017) 2027–2039, <https://doi.org/10.1111/sms.12852>.
- [45] W. Choi, D. Han, J. Kim, S. Lee, Whole-body vibration combined with treadmill training improves walking performance in post-stroke patients: a randomized controlled trial, *Med. Sci. Monit.* 23 (2017) 4918–4925, <https://doi.org/10.12659/msm.904474>.
- [46] M. Abbasi, A.K. Yoozefinejad, M. Poursadeghfar, F.P. Jahromi, A. Motealleh, S. Sobhani, Whole body vibration improves core muscle strength and endurance in ambulant individuals with multiple sclerosis: a randomized clinical trial, *Mult. Scler. Relat. Disord.* 32 (2019) 88–93, <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.04.028>.
- [47] D.B. Jepsen, J. Ryg, S. Hansen, N.R. Jørgensen, J. Gram, T. Masud, The combined effect of Parathyroid hormone (1–34) and whole-body Vibration exercise in the treatment of postmenopausal Osteoporosis (PaVOG study): a randomized controlled trial, *Osteoporos. Int.* 30 (2019) 1827–1836, <https://doi.org/10.1007/s00198-019-05029-z>.
- [48] J.A. Boucher, J. Abboud, J.D. Dubois, E. Legault, M. Descarreaux, Y. Henchoz, Trunk neuromuscular responses to a single whole-body vibration session in patients with chronic low back pain: a cross-sectional study, *J. Manip. Physiol. Ther.* 36 (2013) 564–571, <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2013.09.001>.
- [49] Y.G. Han, S.W. Lee, C.K. Yun, The immediate influence of various whole-body vibration frequency on balance and walking ability in children with cerebral palsy: a pilot study, *J. Exerc. Rehabil.* 15 (2019) 597–602, <https://doi.org/10.12965/jer.1938318.159>.
- [50] D.T. Borges, L.B. Macedo, C.A. Lins, C.O. Sousa, J.S. Brasileiro, Effects of whole body vibration on the neuromuscular amplitude of vastus lateralis muscle, *J. Sport Sci. Med.* 16 (2017) 414–420.
- [51] R. Sierra-Guzmán, F. Jiménez-Díaz, C. Ramírez, P. Esteban, J. Abián-Vicén, Whole-body-vibration training and balance in recreational athletes with chronic ankle instability, *J. Athl. Train.* 53 (2018) 355–363, <https://doi.org/10.4085/1062-6050-547-16>.
- [52] L.L. Ness, E.C. Field-Fote, Effect of whole-body vibration on quadriceps spasticity in individuals with spastic hypertonia due to spinal cord injury, *Restor. Neurol. Neurosci.* 27 (2009) 623–633, <https://doi.org/10.3233/RNN-2009-0487>.
- [53] D.G. Sayenko, K. Masani, M. Alizadeh-Meghrizi, M.R. Popovic, B.C. Craven, Acute effects of whole body vibration during passive standing on soleus H-reflex in subjects with and without spinal cord injury, *Neurosci. Lett.* 482 (2010) 66–70, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.009>. Epub 2010 Jul 13.
- [54] L.L. Ness, E.C. Field-Fote, Whole-body vibration improves walking function in individuals with spinal cord injury: a pilot study, *Gait Posture* 30 (2009) 436–440, <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2009.06.016>.
- [55] R. Boerfeld, E.C. Field-Fote, Single-dose effects of whole body vibration on quadriceps strength in individuals with motor-incomplete spinal cord injury, *J. Spinal Cord Med.* 38 (2015) 784–791, <https://doi.org/10.1177/20457723150000000002>.
- [56] S. Batool, H. Raza, J. Zaidi, S. Riaz, S. Hasan, N.I. Syed, Synapse formation: from cellular and molecular mechanisms to neurodevelopmental and neurodegenerative disorders, *J. Neurophysiol.* 121 (2019) 1381–1397, <https://doi.org/10.1152/jn.00833.2018>.
- [57] R. Speer, R.R. Ratan, Hypoxic adaptation in the nervous system: promise for novel therapeutics for acute and chronic neurodegeneration, *Hypoxia*, Springer, Boston, MA, 2016, pp. 221–243.
- [58] M.E. Zeeman, S. Kartha, B.A. Winkelstein, Whole-body vibration induces pain and lumbar spinal inflammation responses in the rat that vary with the vibration profile, *J. Orthop. Res.* 34 (2016) 1439–1446, <https://doi.org/10.1002/jor.23243>.
- [59] T. Orozci, M.J. van Heuvelen, C. Nyakas, E.A. van der Zee, Vibration detection: its function and recent advances in medical applications, *F1000Res.* 9 (2020), <https://doi.org/10.12688/f1000research.22649.1>.
- [60] É.H. Frederico, A.L.B.D. Cardoso, C.A. Guimarães, L.P. Almeida, R.F. Neves, D. C. Sá-Caputo, R.G. Costa-Cavalcanti, Whole body vibration exercise combined with an extract of *Coriandrum sativum* modify some biochemical/physiological parameters in rats, *Biosci. Rep.* 37 (2017), <https://doi.org/10.1042/BSR20170070>.
- [61] D. Huang, Z. Yang, Z. Wang, P. Wang, Y. Qu, The macroscopic and microscopic effect of low-frequency whole-body vibration after cerebral ischemia in rats, *Metab. Brain Dis.* 33 (2018) 15–25, <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0113-2>.
- [62] A.P. Raval, M. Schatz, P. Bhattacharya, N. d'Adesky, T. Rundek, W.D. Dietrich, H. M. Bramlett, Whole body vibration therapy after ischemia reduces brain damage in reproductively senescent female rats, *Int. J. Mol. Sci.* 19 (2018) 2749, <https://doi.org/10.3390/ijms19092749>.
- [63] Guedes-Aguiar, A. Francisca Santos, R. Guimarães Mendonça, Biological effects of *Pauhinia cupana* (Guarana) in combination with whole-body vibration exercise in wistar rats, *Appl. Sci.* 10 (2020) 1104, <https://doi.org/10.3390/app10031104>.
- [64] S. Rink, M.E. Manthou, J. Arnold, M. Grigo, P. Dicken, D.S. Yousif Abdulla, D. N. Angelov, Motor, sensitive, and vegetative recovery in rats with compressive spinal-cord injury after combined treatment with erythropoietin and whole-body vibration, *Restor. Neurol. Neurosci. Prepr.* (2021) 1–16.
- [65] D. Moher, A. Liberati, J. Tetzlaff, D.G. Altman, Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement, *Int. J. Surg.* 8 (2010) 336–341, <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>.
- [66] C.R. Hooijmans, M.M. Roovers, R.B. De Vries, M. Leenaars, M. Rutkes-Hoitinga, M. W. Langendam, SYRCLE's risk of bias tool for animal studies, *BMC Med. Res. Method.* 14 (2014) 43, <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>.
- [67] G. Peng, L. Yang, C.Y. Wu, L.L. Zhang, C.Y. Wu, F. Li, G.Q. Whole body vibration training improves depression-like behaviors in a rat chronic restraint stress model (https://doi.org/10.1007/s10072-021-01011-0), *Neurochem. Int.* 142 (2021), 104926, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104926>.
- [68] Y. Hamaue, J. Nakano, Y. Sekino, C. Chuganji, J. Sakamoto, T. Yoshimura, T. Origuchi, Effects of vibration therapy on immobilization-induced hypersensitivity in rats, *Phys. Ther.* 95 (2015) 1015–1026, <https://doi.org/10.2522/ptj.20140137>.
- [69] L. Zhao, L. He, S.N. Huang, L.J. Gong, Y.Y. Lv, Z.M. Qian, Protection of dopamine neurons by vibration training and up-regulation of brain-derived neurotrophic factor in a MPTP mouse model of Parkinson's disease, *Physiol. Res.* 63 (2014) 649–657, <https://doi.org/10.33549/physiolres.932743>.
- [70] S.S. Richardson, M. Reicheis, H. Shattuck-Heidorn, M.L. LaBonte, T. Consoli, Opinion: focus on preclinical sex differences will not address women's and men's health disparities, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112 (2015) 13419–13420, <https://doi.org/10.1073/pnas.1516958112>.
- [71] M. Haffner-Luntzer, I. Lackner, A. Liedert, V. Fischer, A. Ignatius, Effects of low-magnitude high-frequency vibration on osteoblasts are dependent on estrogen receptor α signaling and cytoskeletal remodeling, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 503 (2018) 2678–2684, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.08.023>.
- [72] F. Wirth, G. Schempf, G. Stein, K. Wellmann, M. Manthou, C. Scholl, S. Angelova, Whole-body vibration improves functional recovery in spinal cord injured rats, *J. Neurotrauma* 30 (2013) 453–468, <https://doi.org/10.1089/neu.2012.2653>.
- [73] A. Schwarz, C. Pick, R. Harach, G. Stein, H. Bendella, O. Ozsoy, S. Dunlop, Reactions of the rat musculoskeletal system to compressive spinal cord injury (SCI) and whole body vibration (WBV) therapy, *J. Musculoskelet. Neuron Interact.* 15 (2015) 123–136.

ANEXO B – Comprovação de submissão do 2º artigo

Journal of Traditional and Complementary Medicine
Evaluation of biological properties of chronic treatment with *Chenopodium*
***ambrosioides* L. (Amaranthaceae) aqueous extract across alloxan-induced diabetes in**
Wistar rats.
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Original article
Keywords:	Chenopodium ambrosioides; Diabetes; Type 1 Diabetes Mellitus; oral treatment; Wistar rats.
Corresponding Author:	André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso, M.D Rio de Janeiro State University BRAZIL
First Author:	André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso, M.D
Order of Authors:	André Luiz Bandeira Dionizio Cardoso, M.D Eric Heleno Freire Ferreira Frederico Carlos Alberto Sampaio Guimarães Nasser Ribeiro Asad Danúbia da Cunha de Sá-Caputo Anderson Ribeiro-Carvalho Mario Bernardo-Filho
Abstract:	Chenopodium ambrosioides L. (C. ambrosioides) is among the most used plants in traditional medicines worldwide. Research with C. ambrosioides demonstrated their multiple biological functions, including antidiabetic potential. However, the chronic effects of C. ambrosioides in diabetes mellitus has not been elucidated in vivo. The current study investigates the biological effects of chronic treatment with an aqueous extract of C. ambrosioides in healthy and alloxan-induced diabetic rats. Wistar rats were allocated in 4 groups: control group (CON), a group submitted to oral treatment (OT) with C. ambrosioides (CHE), an alloxan-induced diabetic control (A-T1DM) and alloxan-induced diabetic group submitted to OT with C. ambrosioides (A-T1DM+CHE). Body mass, feed intake, body organ's function considering the biodistribution of sodium pertechnetate (Na99mTcO4) and serum biomarkers levels were evaluated over 5-weeks. Chronic treatment with C. ambrosioides resulted in body mass loss, and increases of food intake, serum glucose and alkaline phosphatase in diabetic rats (A-T1DM and A-T1DM+CHE). In contrast, decreases serum levels of alanine aminotransferase and the bioavailability of Na99mTcO4 compared to healthy models (CON and CHE). These results showed that C. ambrosioides displays biochemical and physiological activity in alloxan-induced diabetic models, which may be due to the cumulative exposure to OT. In conclusion, this study presents evidence which would support further studies regarding the C. ambrosioides potential for diabetes treatment.
Suggested Reviewers:	Yen-Ching Chang Chung Shan Medical University nicholas@csmu.edu.tw Fu-Juay Chang National United University fjchang@nuu.edu.tw Patrícia Meyer Froes Potiguar University pffroes@terra.com.br
Opposed Reviewers:	