

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE  
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**HELEN REBELO SORATO**

**EFEITOS DA REDUÇÃO CALÓRICA ASSOCIADA AO  
TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE RESISTÊNCIA À INSULINA,  
ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS  
COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA**

**CRICIÚMA  
OUTUBRO DE 2019**

**HELEN REBELO SORATO**

**EFEITOS DA REDUÇÃO CALÓRICA ASSOCIADA AO  
TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE RESISTÊNCIA À INSULINA,  
ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS  
COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA**

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

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pastoris Muller

**CRICIÚMA  
OUTUBRO DE 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S713e Sorato, Helen Rebelo.

Efeitos da redução calórica associada ao treinamento resistido sobre resistência à insulina, estresse oxidativo e inflamação em camundongos com obesidade induzida por dieta / Helen Rebelo Sorato. - 2019.

95 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2019.

Orientação: Alexandre Pastoris Muller.

1. Obesidade. 2. Dieta de baixa caloria. 3. Exercícios físicos. 4. Inflamação. 5. Estresse oxidativo. 6. Resistência à insulina. I. Título.

CDD 23. ed. 613.25

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



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

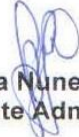
---

### ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 330

Com início às 16:30 (dezesseis horas e trinta minutos) do dia dez do mês de setembro de 2019 (dois mil e dezenove), realizou-se, na sala 304 do Bloco R2 do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), o seminário formal de apresentação dos resultados da dissertação de Mestrado de **Helen Rebelo Sorato** sob a orientação do Prof. Dr. Alexandre Pastoris Müller, intitulada **"EFEITOS DA REDUÇÃO CALÓRICA ASSOCIADA AO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE RESISTÊNCIA À INSULINA, ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO EM TECIDO CARDÍACO DE CAMUNDONGOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA"**. A dissertação foi examinada por uma banca examinadora constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Paulo César Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada, Profa. Dra. Vanessa Moraes de Andrade (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovada e Prof. Dr. Fabio Santos de Lira (Universidade de São Paulo - USP) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: **APROVADA**, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 17:30 (dezessete horas e trinta minutos), dos quais eu, Fernanda Nunes Peruchi, Assistente Administrativo do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC lavrei a presente ata, que assino juntamente com o Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol, Coordenador do Programa. Criciúma, 10 (dez) de setembro de 2019 (dois mil e dezenove).

  
Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol  
Coordenador PPGCS

Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol  
Coordenador do PPGCS

  
Fernanda Nunes Peruchi  
Assistente Administrativo

## **FOLHA INFORMATIVA**

A presente dissertação de mestrado foi elaborada seguindo a resolução 07/2015 do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Os primeiros experimentos deste trabalho foram realizados nas antigas instalações do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício (LAFIBE), sob orientação do professor Dr. Ricardo Aurino de Pinho, e finalizado nas novas instalações do Laboratório de Biomedicina Translacional, PPGCS – UNESC, sob a orientação do professor Dr. Alexandre Pastoris Müller.

Dedico este trabalho a meus pais, pois apesar de muitas vezes minhas escolhas terem sido diferentes das que eles queriam para mim, sempre estiveram ao meu lado, me apoiando incansavelmente, para que mais esta conquista fosse possível.

## AGRADECIMENTOS

Sem clichês, minha maior gratidão é a Deus (acredito que todo mundo independente de religião deveria acreditar em algo maior, uma força maior que se denomina fé), ele quem me deu uma nova chance de viver nessa trajetória e cuidou de mim e minha família nos momentos difíceis que tivemos ao longo deste tempo. Certas coisas talvez venham realmente para nos fazer mais fortes!

Agradeço imensamente minha família – José, Sonia e Heliton – pois não mediram esforços para que eu realizasse mais este sonho, me apoiando de todas as formas possíveis, seja financeira; me compreendendo nos momentos de maior estresse; orando por mim nos momentos difíceis, enfim, em forma de carinho e/ou palavras me deram sempre força para seguir em frente.

Ao meu noivo Tiago, um muito obrigado; meu poço de paciência, quem sempre me compreendeu quando as crises de ansiedade batiam. Quando as lágrimas de desespero escorriam pelos olhos, ele esteve sempre ao meu lado, e em um abraço confortante me acalmava de uma forma sem explicação quando as palavras de incentivo já não eram suficientes. Era também ele quem mais vibrava comigo nos trabalhos apresentados com sucesso e premiações.

Meus mais sinceros agradecimentos também vão para meu primeiro e eterno orientador, Ricardo Pinho, ele quem me permitiu conhecer esse mundo da pesquisa e quem sempre foi minha base e inspiração para chegar até aqui. Não tenho palavras para descrever o quanto me sinto lisonjeada em ter sido sua orientanda; por teres me dado essa oportunidade de conhecer um mundo diferente, pois com você não aprendi somente sobre ciência, mas sobre ser mais humana e que acima de tudo, que mesmo que nos machuquem, nunca devemos passar por cima do outro. Sentimos tua falta quando fostes injustiçado, de maneira errônea, fria e meramente política, porém nunca irão tirar o que fostes para nós – teus orientandos – pois nossa essência e amizade transcende distâncias. Obrigada por toda ajuda e incentivo de sempre.

Agradeço também ao meu orientador, Alexandre Muller, que me acolheu de braços abertos quando fiquei sem rumo e sem chão. Logo ele, conhecido por ser um cara “bravo”. Ele foi o único a me abraçar quando eu mais precisei, e veio logo dele, de quem eu nunca esperei. Foi ele quem ao longo desse trabalho sempre me impulsionou dizendo que eu era capaz nos momentos de incerteza e insegurança. Esse baixinho, tão durão, sempre me tratou com carinho, talvez tenha sido porque no início já adiantei que eu cairia em lágrimas caso ele brigasse comigo (risos). Apesar de tudo, tivemos nossos desentendimentos, pois ninguém é perfeito e ninguém é igual; mas ele me deu liberdade e a oportunidade de conhecer essa pessoa que ele realmente

é, e que no fundo talvez poucos saibam, mas tem um coração enorme além de toda competência profissional. Do fundo do meu coração, obrigada por aceitar ser meu orientador e confiar tanto em mim.

Agradeço as pessoas dos dois grupos de pesquisa ao qual fiz parte, sejam do Lafibe ou do Biomedicina Translacional, principalmente à Pauline (rainha dos cálculos que me acudiu em todos os momentos de desespero); Renata (rainha da histologia que sempre tirou minhas dúvidas e me ensinou a mexer em power point e excel – ic bem remota); Giulia (rainha da verdades na cara, que gosta de uma fofoca mas sempre soube ser amiga); Bruna (rainha da citocinas e parceria de beer); Bárbara (rainha do blot, parceira de happy hour e amiga da vida, das incansáveis reclamações, superações, sorvetes, e cervejas); Natália (nerdzinha e parceira de bar); Kely (irmãzinha de hipotireoidismo e outras “doenças”); Adriane (de outros labs que me tirou mil dúvidas, ou mil vezes a mesma dúvida sobre DNA); Thaís (rainha da bioquímica mais falante e inteligente impossível); Sherolin (um poço de meiguice e sensatez); Hemelin (parceira confiante do mestrado); Vitor (colega do mestrado, grupo e parceiro de bar); Elias (o doutorando, garoto das boas energias); Isis (parceira de mestrado e grupo, dedicada, sempre me incentivou com mensagens de carinho); Sabrina (colega de mestrado e grupo); aos demais colegas que entraram comigo no mestrado e fizeram parte da melhor turma de início que em um simples gesto tornaram meus momentos difíceis menos complicados (Carol, Mateus, Mírian, Bethina, Nathália, Karol); aos meninos do biotério Deivid (marrentinho da vida noturna) e Heron (tigre fanático que diz que eu serei mais bonita quando mais velha, e eu vou me iludir e esperar ansiosa por isso) e à todos que contribuíram de alguma forma ao longo desse período, seja colocando a mão na massa comigo ou trocando palavras de conforto, desabafos, choros, vitórias, risos e abraços.

Gostaria de agradecer também aqueles colegas de lab da iniciação científica, antes do mestrado, mas que de alguma forma foram especiais na minha vida nessa área: Mateus, Lara, Carol, Fernanda e Stella, e à aqueles de verdade da vida, que distância nenhuma tira da gente e que compreenderam minha ausência: Janaina (bf), Bruna Estevam, Soninha, Jeanine, Priscila, Aline, Bruna Coelho, Carol, Drielly, Maria, Denise, Bruna Tanque, Fran e Gi.

Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do Programa de Taxas PROEX pelo apoio financeiro deste trabalho.

Por fim, minha maior gratidão é olhar para trás e ver o quanto aprendi, com vocês todos, e comigo mesma, sozinha, nessa caminhada de superação!



*“Apenas tome cuidado com o que chamo de obesidade mental.  
Situação em que você absorve muito conteúdo, mas não coloca nada em prática”.*  
*(Caio Carneiro – Seja Foda!).*

## RESUMO

A obesidade é uma inflamação crônica de baixo grau devido à hipertrofia do tecido adiposo branco (TAB), aumento de citocinas pró-inflamatórias e desequilíbrio redox. É uma doença metabólica comórbida, que afeta órgãos e tecidos sendo um problema de saúde pública. Modelos experimentais alimentados com dietas hiperlipídicas desenvolvem obesidade e resistência à insulina (RI). Em contra partida, o exercício físico tem sido apontado como intervenção terapêutica eficaz no controle de doenças metabólicas, com possíveis alterações nos indicadores de RI, estresse oxidativo e inflamação. Em programas de redução de peso normalmente se associa exercício à redução calórica da dieta, no entanto, existem poucos dados referentes à redução calórica (RC) associada ao treinamento resistido (TR). O objetivo do presente estudo é verificar os efeitos da RC e sua associação ao TR em camundongos sob parâmetros de RI, morfologia do TAB, estresse oxidativo e inflamação. Swiss foram randomizados inicialmente em 2 grupos: Dieta Padrão (DP); Obesidade Induzida por Dieta (DIO – do inglês *diet-induced obesity*) e alimentados durante 17sem com dieta padrão ou hiperlipídica. Após esse período foi realizado o teste de tolerância à insulina (ITT – do inglês *insulin tolerance test*) e os animais foram divididos em 5 grupos: DP; DP+TR; DIO; RC; RC+TR. Durante 9sem os animais foram submetidos aos protocolos de intervenção (diminuição de gordura e calorias da dieta hiperlipídica associada ou não ao TR) e realizaram 1sem de adaptação e 8sem de TR, intervalo de 48hs/sessões. O treinamento foi realizado em escada com volume/intensidade progressiva usando um peso acoplado à cauda do animal de 20% – 75%/Kg, 5 – 10 repetições, 3 – 5 séries com 2min de intervalo. Foi realizado controle de peso corporal total. ITT foi novamente realizado pós-intervenção. Após 48hs do ITT os animais foram eutanasiados e o TAB e o coração foram removidos e armazenados em -80°C para posteriores análises. O Teste t-Student foi usado para comparações entre variáveis não pareadas para confirmar o quadro de RI. Os demais dados foram calculados e expressos em média ± erro padrão e analisados por *OneWay* – ANOVA, *post-hoc* Newman Keuls  $p < 0,05$ . Os resultados demonstram que o protocolo de obesidade induzida por dieta foi eficaz ao induzir aumento do peso corporal e RI com valores da curva de glicose elevados, maior AUC (área sob a curva), aumento da glicemia de jejum, menor kITT (constante de decaimento de glicose), aumento da atividade da SOD, oxidação do DCFH e conteúdo de IL-6 no grupo DIO vs DP e diminuição da atividade da CAT. Não houveram diferenças estatísticas no conteúdo de TNF- $\alpha$  em nenhum grupo. RC melhorou RI, diminuiu SOD, DCFH e peso corporal vs DIO. DP+TR vs DP diminuiu glicemia de jejum e aumentou kITT. RC+TR melhorou RI, diminuiu SOD vs RC e levou CAT, DCFH e IL-6 à valores basais. Alterou também peso corporal, índice de adiposidade e diâmetro do adipócito. Tomados em conjunto, os resultados demonstram que RC associada ao TR revertem parcialmente as alterações metabólicas desencadeadas pela obesidade induzida por dieta, mas TR merece destaque com papel fundamental na modulação dessas complicações.

**Palavras chave:** Obesidade; Inflamação; Estresse Oxidativo; Redução Calórica; Treinamento Resistido.

## ABSTRACT

Obesity is a chronic low grade inflammation due to white adipose tissue (WAT) hypertrophy, increased proinflammatory cytokines and redox imbalance. It is a comorbid metabolic disease that affects organs and tissues and is a public health problem. Experimental models fed on high-fat diets develop obesity and insulin resistance (IR). In contrast, physical exercise has been identified as an effective therapeutic intervention in the control of metabolic diseases, with possible changes in the indicators of IR, oxidative stress and inflammation. In weight reduction programs, exercise is usually associated with caloric reduction in the diet, however, there is little data on caloric reduction (CR) associated with resistance training (RT). The aim of this study is to verify the effects of CR and its association with RT in mice under IR parameters, BW morphology, oxidative stress and inflammation. Swiss were initially randomized into 2 groups: Standard Diet (SD); Diet-induced obesity (DIO) and fed during 17-wk without a standard or hyperlipid diet. After this period, the insulin tolerance test (ITT) was performed and the animals were divided into 5 groups: SD; SD + RT; DIO; CR; CR + RT. During 9-wk the animals were submitted to the intervention protocols (fat and calories reduction of the hyperlipidic diet associated or not with RT) and performed 1-wk without adaptation and 8-wk without RT, 48 hours / sessions. Training was performed on a progressive volume / intensity ladder using a tail-attached weight of 20% - 75% / kg, 5 - 10 repetitions, 3 - 5 sets with 2min intervals. Total body weight control was performed. ITT was again performed post intervention. After 48h of ITT the animals were euthanized and the WAT and heart were removed and stored at -80°C for further analysis. t-Student test was used for comparisons between unpaired variables to confirm the IR picture. Other data were calculated and expressed as mean  $\pm$  standard error and analyzed by *OneWay* - ANOVA, *post-hoc* Newman Keuls  $p < 0.05$ . The results demonstrate that the diet-induced obesity protocol was effective in inducing body weight gain and IR with elevated glucose curve values, higher AUC (area under the curve), increased fasting glucose, lower kITT (glucose decay constant), increased SOD activity, DCFH oxidation and IL-6 content in the DIO vs SD group and decreased CAT activity. There was no difference statistic in TNF- $\alpha$  content in any group. CR improved IR, decreased SOD, DCFH and body weight vs DIO. SD + RT vs SD decreased fasting glucose and increased kITT. CR + RT improved IR, decreased SOD vs CR and brought CAT, DCFH and IL-6 to baseline. It also altered body weight, adiposity index and adipocyte diameter. Taken together, the results show that CR associated with RT partially reverses the metabolic changes triggered by diet-induced obesity, but RT deserves prominence with a key role in modulating these complications.

**Key Words:** Obesity; Inflammation; Oxidative Stress, Caloric Diet Reduction; Resistance Training

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> <i>Inflamação do tecido adiposo</i> .....	26
<b>Figura 2.</b> <i>Obesidade e espécies reativas</i> .....	30
<b>Figura 3.</b> <i>Ácidos graxos saturados e inflamação</i> .....	33
<b>Figura 4.</b> <i>Efeito anti-inflamatório do exercício</i> .....	37
<b>Figura 5.</b> <i>Desenho Experimental</i> .....	42
<b>Figura 6.</b> <i>Imagens ilustrativas do aparato para o treinamento</i> .....	47
<b>Figura 7.</b> <i>Protocolo de treinamento resistido</i> .....	48
<b>Figura 8.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta na resistência à insulina</i> ....	54
<b>Figura 9.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido na resistência à insulina</i> .....	56
<b>Figura 10.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido no peso corporal total e índice de adiposidade</i> .....	58
<b>Figura 11.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido na morfologia do tecido adiposo branco</i> .....	60
<b>Figura 12.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre marcadores inflamatórios no tecido cardíaco</i> .....	61
<b>Figura 13.</b> <i>Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros de estresse oxidativo no tecido cardíaco</i> .....	63

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Composição da Dieta Padrão adquirida da Puro Trato Nutrição Animal.....	44
Tabela 2 – Composição da Dieta Hiperlipídica adquirida da Prag Soluções Biociência .....	45
Tabela 3 – Composição da Redução Calórica e Gorduras da Dieta Hiperlipídica adquirida da Prag Soluções Biociência .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 4PL – 4 Parâmetros Logísticos, do inglês *Four Parameter Logistic*
- ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
- AKT – Proteína Cinase B, do inglês *Protein kinase B*
- AMP – Monofosfato de Adenosina, do inglês *Adenosine Monophosphate*
- AMPC – Monofosfato Cíclico de Adenosina, do inglês *cAMP Cyclic Adenosine Monophosphate*
- AMPK – Proteína Cinase Ativada por AMP, do inglês *AMP-activated Protein Kinase*
- ARE – Elemento de Resposta Antioxidante, do inglês *Antioxidant Response Element*
- AT – Termogênese Adaptativa, do inglês *Adaptive Thermogenesis*
- ATGL – Lipase Triglicéride Proteica, do inglês *Adipose Triglyceride Lipase*
- ATP – Adenosina Trifosfato, do inglês *Adenosine Triphosphate*
- AUC – Área sob à curva
- BSA – Albumina Bovina Sérica, do inglês *Bovine Serum Albumin*
- CAT – Catalase
- CTE – Cadeia de Transporte de Elétrons
- CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
- DAG – Diacilglicerol, do inglês *Diacylglycerol*
- DCFH – diclorodidifluoresceína, do inglês *Dichlorofluorescein*
- DCF – 2',7'-diclorofluoresceína, do inglês *2',7'-Dichlorofluorescein*
- DCFH-DA – 2',7'-diclorofluoresceína, do inglês *2',7'-Dichlorofluorescein Acetate*
- DAMP – Receptor de Reconhecimento Padrão Associado à Danos, do inglês *Damage-associated Molecular Patterns*
- DIO – Obesidade Induzida por Dieta, do inglês *Diet-induced Obesity*
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic Acid*
- ELISA – Ensaio Imunoenzimático, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- eNOS – Óxido Nítrico Sintase Endotelial, do inglês *Endothelial Nitric Oxide Synthase*
- ERO – Espécies Reativas de Oxigênio, do inglês *Reactive Oxygen Species*
- ERN – Espécies Reativas de Nitrogênio, do inglês *Reactive Nitrogen Species*
- FADH<sub>2</sub> – Flavina Adenina Dinucleotídeo, do inglês *Flavin Adenine Dinucleotide*
- GLUT – Transportadores de Glicose, do inglês *Glucose Transporter*
- GPX – Glutationa Peroxidase, do inglês *Glutathione Peroxidase*
- GSH – Glutationa Reduzida, do inglês *Glutathione Reduced*

GSSG – Glutationa Oxidada, do inglês *Glutathione Oxidized*

GR – Glutationa Redutase, do inglês *Glutathione Reductase*

H&E – Hematoxilina-Eosina, do inglês *Hematoxylin and Eosin*

HDL – Lipoproteína de alta densidade, do inglês *High Density Lipoprotein*

HFD – Dieta Hiperlipídica, do inglês *High Fat Diet*

HIF-1 – Fator Induzível por Hipóxia, do inglês *Hypoxia-inducible Factor*

HSL – Lipase Sensível à Hormônio, do inglês *Hormone-Sensitive Lipase*

HRP - Enzima Peroxidase de Rábano, conjugado de estreptavidina, do inglês *Horseradish Peroxidase Conjugated Streptavidin*

IGFs – Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina, do inglês *Insulin-like Growth Factors*

IKK  $\beta$  – Inibidor do Fator Nuclear Kappa B, do inglês *Inhibitor of Nuclear Factor Kappa-B Kinase Subunit Beta*

IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 $\beta$

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

IL-15 – Interleucina 15

IL-1ra – Antagonista do receptor de IL-1, do inglês *Interleukin-1 Receptor Antagonist*

IMC – Índice de Massa Corporal

iNOS – Óxido Nítrico Sintase Induzível, do inglês *Nitric Oxide Synthase Inducible*

IR – Receptor de Insulina, do inglês *Insulin Receptor*

IRS 1 e 2 – Substrato do Receptor de Insulina 1 e 2, do inglês *Insulin Receptor Substrate 1 e 2*

ITT – Teste de Tolerância à Insulina, do inglês *Insulin Tolerance Test*

JAK- Janus Quinase, do inglês *Janus Kinase*

JNK – c-Jun N-Terminal Cinase, do inglês, *c-Jun N-terminal Kinases*

kITT – Constante de decaimento de glicose

LDL– Lipoproteína de baixa densidade, do inglês *Low Density Lipoprotein*

LPO – Lipoperoxidação lipídica, do inglês *Lipid Peroxidation*

LPS – Lipopolissacarídeo, do inglês *Lipopolysaccharide*

M1 e 2 – Macrófagos, do inglês *Macrophages*

MCP-1 – Proteína Quimiotática de Monócitos, do inglês *Monocyte Chemotactic Protein*

MGL – Lipase Monoacilglicerol, do inglês *Monoacylglycerol Lipase*

MPO – Mieloperoxidase, do inglês *Myeloperoxidase*

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo, inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide*

NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato, do inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*

NFAT – Fator Nuclear de Células T Ativadas, do inglês *Nuclear Factor of Activated T-cells*

NFκB – Fator Nuclear Kappa B, do inglês *Factor Nuclear Kappa B*.

NLRP3 – Receptor de Reconhecimento Padrão tipo NOD, Proteína 3 contendo os domínios: NACHT, LRR e PYD, do inglês *NACHT, LRR and PYD Domains-containing Protein 3*.

NO – Óxido Nítrico, do inglês *Nitric Oxide*

NOX – Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase, do inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase*

Nrf-2 – Fator Nuclear Eritroide 2, do inglês *Nuclear Factor-Erythroid 2-Related Factor 2*

O<sub>2</sub> – Oxigênio

O<sub>2</sub><sup>•-</sup> – Ânion Superóxido

OH<sup>•</sup> – Radical Hidroxila

ONOO<sup>-</sup> – Peroxinitrito

PAMP – Receptores de Reconhecimento Associado à Patógenos, do inglês *Pathogen-associated Molecular Pattern*

PBS – Tampão Fosfato Salino, do inglês *Phosphate Buffered Saline*

PFA – Paraformaldeído, do inglês *Paraformaldehyde*

PGC1-α – Coativador 1-alfa do Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma, do inglês *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha*

PI3K –Fosfatidilinositídeo 3 Cinase, do inglês *Phosphatidylinositol 3-Kinase*

PKA – Proteína Cinase A, do inglês *Protein Kinase A*

PKC – Proteína Kinase C, do inglês *Protein Kinase C*

PMSF – Fluoreto de fenilmetilsulfonila, do inglês *Phenylmethylsulfonyl Fluoride*

PP2A – Proteína Fosfatase 2, do inglês *Protein Phosphatase 2*

PPGCS – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

PRRs – Receptores de Reconhecimento Padrão, do inglês *Pattern Recognition Receptors*

RC – Redução Calórica

RI – Resistência à insulina

RL – Radicais Livres

SOD – Superóxido Dismutase, do inglês *Superoxide Dismutase*

STAT – Fatores de transcrição ativados por tirosinas quinases, do inglês *Signal Transducers and Activators of Transcription*

TAB – Tecido Adiposo Branco



TAG – Triacilglicerol, do inglês *Triacylglycerol*

TLR4 – Receptor Semelhante ao Toll 4, do inglês *Toll Like Receptor*

TMB – 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina, do inglês 3,3', 5,5; - *Tetramethylbenzidine*

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ , do inglês *Tumor Necrosis Factor-  $\alpha$*

UNESC– Universidade do Extremo Sul Catarinense

WHO – Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*

XO – Xantina Oxidase, do inglês *Xanthine Oxidase*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
1.1 OBESIDADE E INFLAMAÇÃO .....	22
1.2 ESTRESSE OXIDATIVO NA OBESIDADE .....	27
1.3 DIETA E PROCESSO INFLAMATÓRIO .....	31
1.4 PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NA OBESIDADE .....	35
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>40</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	40
<b>2.1.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>40</b>
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>41</b>
3.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS .....	41
3.2 AMOSTRA .....	41
3.3 DESENHO EXPERIMENTAL .....	42
3.4 DIETA .....	42
<b>3.4.1 Composição das dietas</b> .....	<b>43</b>
3.4.1.1 Dieta Padrão .....	43
3.4.1.2 Dieta Hiperlipídica .....	45
3.4.1.3 Redução Calórica da Dieta .....	46
3.5 PROTOCOLO DE TREINAMENTO.....	47
<b>3.5.1 Adaptação</b> .....	<b>47</b>
<b>3.5.2 Treinamento Resistido</b> .....	<b>48</b>
3.6 EUTANÁSIA .....	48
3.7 ANÁLISES .....	49
<b>3.7.1 Teste de Tolerância à Insulina (ITT)</b> .....	<b>49</b>
<b>3.7.2 Peso corporal e Índice de Adiposidade</b> .....	<b>49</b>
<b>3.7.3 Histologia</b> .....	<b>50</b>
<b>3.7.4 Análises Bioquímicas</b> .....	<b>50</b>
3.7.4.1 Conteúdo de Proteína .....	50
3.7.4.2 Parâmetros Inflamatórios.....	51
3.7.4.2.1 <i>Citocinas</i> .....	51
3.7.4.3 Parâmetros de Estresse Oxidativo .....	52
3.7.4.3.1 <i>Produção de Agente Oxidante</i> .....	52
3.7.4.3.2 <i>Atividade de Enzimas Antioxidantes</i> .....	52

<b>3.7.5 Estatística .....</b>	<b>53</b>
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
4.1 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA NA RESISTÊNCIA À INSULINA .....	54
4.2 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NA RESISTÊNCIA À INSULINA.....	55
4.3 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NO PESO CORPORAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE .....	56
4.4 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NA MORFOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO .....	59
4.5 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS NO TECIDO CARDÍACO .....	61
4.6 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO.....	62
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>94</b>
<b>CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA – UNESC) .....</b>	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma doença metabólica crônica que atinge pessoas de diferentes classes sociais, gênero e idade e que vem aumentando a morbidade e diminuindo a longevidade. Em decorrência da obesidade, o aumento no conteúdo de gordura visceral e ativação crônica do sistema imune estão relacionadas à doenças associadas à “síndrome metabólica” (conjunto de condições relacionadas ao estilo de vida que aumentam o risco de desenvolver outras doenças) (Fernández-Sánchez et al., 2011; Dror et al., 2017; Yamashita et al., 2018), como resistência à insulina (RI), diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias e doenças cardiovasculares (Farias et al., 2013; Wedell-Neergaard et al., 2018).

Dados da WHO (2018) apontam que desde 1975 a obesidade quase triplicou em todo o mundo, sendo que em 2016 mais de 1.900 milhões de adultos (39% de homens e 40% de mulheres), com 18 anos ou mais estavam acima do peso e dentre esse número mais de 650 milhões eram obesos (11% de homens e 15% de mulheres). Além disso, 41 milhões de crianças com menos de cinco anos de idade estavam acima do peso ou obesas. Somando crianças e adolescentes (5 a 19 anos de idade) havia em 2016 mais de 340 milhões com sobrepeso ou obesidade.

No Brasil a obesidade também vem crescendo, onde 55,7% da população se encontra acima do peso, é o que aponta a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) realizada em 2018 pelo Ministério da Saúde (2019). Na região Sul (PR, SC, RS), 56,08% dos adultos estão com excesso de peso; pessoas com idade entre 10 e 19 anos 24,6% e crianças entre 5 e 9 anos 35,9% (ABESO, 2018). A obesidade é considerada a epidemia do século XXI (González-Muniesa et al., 2017), tendo uma projeção de que em 2025 cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso e mais de 700 milhões obesos. Além disso, o número de crianças com sobrepeso e obesidade no mundo pode chegar à 75 milhões (ABESO, 2018; WHO, 2018).

A obesidade pode ser diagnosticada em adultos por um simples indicador da relação entre peso e altura, chamado de Índice de Massa Corporal (IMC). Contudo, é importante destacar que o IMC não distingue “massa gorda de massa magra”, podendo não ser tão preciso em indivíduos idosos, decorrente da perda de massa magra e diminuição do peso corporal, e também superestimado em indivíduos que treinam, principalmente praticantes de musculação e exercícios de força (Manna e Jain, 2015; ABESO, 2018). Embora o IMC seja o método mais utilizado existem também outras formas de avaliações baseadas em antropometria, análise de impedância e densitometria (González-Muniesa et al., 2017).

A obesidade atinge países desenvolvidos e subdesenvolvidos, em que a ingestão de alimentos com baixo poder nutritivo e com grande densidade calórica, alta palatabilidade e pouca saciedade, favorece o ganho de peso corporal. Nesse cenário, a obesidade tem se tornado um problema emergente de saúde pública em escala global, somado às mudanças ambientais e sociais causadas pelo desenvolvimento e à crescente urbanização/globalização (Pereira-Lancha et al., 2012; ABESO, 2018). As comodidades da vida moderna que envolvem novas formas de trabalho, meios de transporte passivos, alimentos práticos, industrializados e ultra processados, à pronta entrega e baixo custo tem levado os indivíduos a aderirem hábitos diários inadequados. Essas mudanças no estilo de vida levam conseqüentemente ao aumento na ingestão de alimentos altamente calóricos, ricos em gordura e açúcares associados ainda à diminuição da atividade física (WHO, 2018).

Apesar de fortes evidências científicas demonstrando os benefícios do exercício regular para a prevenção e tratamento de várias doenças crônicas, incluindo a obesidade, a inatividade física é também altamente prevalente em todo o mundo (Pedersen, 2018). De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU) mais de 1,4 bilhão de adultos em todo o mundo não praticam atividades físicas suficientes, é o que revela a primeira pesquisa feita para estimar tendências globais sobre o hábito de se exercitar realizado pela WHO em um levantamento de dados de 2001 a 2016. Além disso, a pesquisa aponta que no Brasil, a inatividade física afeta 47% da população (ONU, 2019). A queda na atividade física é em parte devido à inatividade durante o tempo de lazer e ao comportamento sedentário no trabalho e em casa, assim como o aumento no uso de meios de transporte passivos também contribui para a falta de atividade física (Fiuza-Luces, et al., 2018).

Apesar de parecer contraditório ao aumento de peso da população, o brasileiro tem buscado um estilo de vida mais saudável. O consumo regular de frutas e hortaliças cresceu 15,5% entre 2008 e 2018 e a prática de atividade física aumentou 25,7% de 2009 a 2018 (ONU, 2019). No entanto, ainda existe uma grande prevalência de hábitos inadequados e nesse ambiente em que o consumo é excessivo e/ou uma dieta de má qualidade, associada à baixos níveis de atividade física, o organismo é exposto a um desequilíbrio redox e uma inflamação crônica (Farhangi et al., 2017) que compromete vários órgãos e tecidos, inclusive a função cardíaca, tornando o coração susceptível à lesões e disfunções (Heydemann, 2016; Done et al., 2017).

Em virtude disso, estudos buscam diferentes formas e terapias farmacológicas ou não, na tentativa de minimizar os efeitos deletérios que a obesidade pode promover no organismo. Diferentes tipos de dieta (Wasinski et al., 2013; Davis et al., 2017; González-

Muniesa et al., 2017) e a prática do exercício físico tem sido importantes aliados em diminuir os riscos relacionados à obesidade, pois tais mudanças de comportamento contribuem para reestabelecer o equilíbrio dos sistemas orgânicos (Krishnan e Cooper, 2013; Touati et al., 2015; Pedersen, 2018). No entanto, apesar da literatura apontar que a prática do exercício é importante para prevenir ou complementar o tratamento da obesidade (Di Meo et al., 2017), deve-se levar em consideração as características do exercício, como: tipo, intensidade, duração e frequência. Estudos recentes investigam o papel do treinamento resistido e demonstram que este parece ser uma estratégia viável para reduzir gordura corporal (Miller et al., 2018), melhorar a sensibilidade à insulina (Shehab e Abd, 2011) e controlar distúrbios metabólicos associados ao quadro de estresse oxidativo (Di Meo et al., 2017) e inflamação na obesidade (Mardare et al., 2016), reduzindo conseqüentemente o risco de doenças cardiovasculares (Fiuza-Luces, et al., 2018).

Apesar de existirem estudos com dietas hiperlipídicas e também redução calórica da dieta associadas com exercício (Faulks et al., 2006; Xie et al., 2007; Vieira et al., 2009; Lijnen et al., 2012; Cui et al., 2013; Wasinski et al., 2013; Cho et al., 2016; Davis et al., 2017), nenhum deles associa o exercício resistido à troca de dieta baseado na redução do percentual de gordura e calorias da dieta em animais, bem como a associação com parâmetros de estresse oxidativo e inflamação. Com base no exposto, esse estudo tem como objetivo verificar os efeitos da redução calórica da dieta e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros clínicos de resistência à insulina, histológicos e bioquímicos em tecido adiposo e cardíaco de camundongos com obesidade induzida por dieta. Com esses resultados o presente estudo pretende elucidar melhor os mecanismos do exercício, principalmente o treinamento de resistido associado à troca de dieta, marcada por um perfil clínico, porém, em animais, como uma intervenção terapêutica hipoteticamente eficaz em modular complicações associadas à obesidade, bem como o controle de peso e alterações no tecido adiposo, melhora da sensibilidade à insulina, e efeito cardioprotetor.

## 1.1 OBESIDADE E INFLAMAÇÃO

A obesidade é considerada uma inflamação crônica de baixo grau, associada à conteúdos aumentados de citocinas pró-inflamatórias em detrimento da diminuição das anti-inflamatórias, bem como a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), ocasionando um desequilíbrio redox (Sakurai et al., 2009; Kesharwani et al., 2015; Murphy et al., 2015). A WHO (2018) define ainda que sobrepeso e obesidade são causados por um

acúmulo excessivo de gordura, e Hariri e Thibault (2010); Krishnan e Cooper, (2013) e Di Meo et al. (2017), que a principal causa é o desequilíbrio energético entre as calorias ingeridas e gastas.

A obesidade afeta importantes tecidos metabólicos, como: tecido adiposo, fígado, músculo esquelético, pâncreas, hipotálamo, coração, entre outros (Yamashita et al., 2018). Esse quadro inflamatório decorrente da obesidade está associado principalmente com alterações no tecido adiposo branco (TAB), que é um órgão endócrino (Tseng et al., 2010; Rui, 2017). O TAB é capaz de armazenar triglicerídeo (Galic et.al, 2010; Kang et al., 2016; Di Meo et al., 2017), responder à sinais hormonais para induzir à lipólise e liberar ácidos graxos livres (AGL) na circulação para oxidação ou armazenamento por outros tipos de células e também produzir hormônios específicos, conhecidos como adipocinas, incluindo: leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ); interleucina 6 (IL-6) e outras – essas adipocinas regulam a homeostase metabólica por agirem também em outros órgãos (Brestoff e Artis, 2015; Kang et al., 2016).

O TNF- $\alpha$  e a IL-6 são adipocinas pró-inflamatórias envolvidas nas alterações metabólicas decorrentes da obesidade incluindo resistência à insulina. A insulina é um hormônio anabólico produzido nas células  $\beta$  no pâncreas, responsável por promover a captação de glicose nas células através de uma cascata de sinalização que leva à translocação do transportador de glicose transmembranar GLUT 4. Essa sinalização começa com a ligação da insulina em seu receptor específico de membrana IR (*do inglês insulin receptor*) e consequente autofosforilação em resíduos de tirosina. A ativação do IR permite a fosforilação em tirosina de vários substratos sendo conhecido como IRS1 e IRS2 (substrato de receptor de insulina 1 e 2). A fosforilação das proteínas IRS cria sítios de ligação que ativam outras proteínas como a PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase), que ativa também a Akt (proteína kinase B), necessária para translocação do GLUT 4. O comprometimento de qualquer dessas proteínas acaba promovendo aumento da glicose na circulação, consequentemente resistência à insulina, aumentando a hiperinsulinemia e comprometendo vias anabólicas (Choi e Kim, 2010; Thomas et al., 2015; Di Meo et al., 2017).

Além disso, IL-1 $\beta$  parece estimular a secreção de outras citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como IL-6 e MCP-1 (proteína quimioatratante de monócitos 1). Essas citocinas, bem como o TNF- $\alpha$  são capazes de inibir a sinalização de insulina, a lipase lipoproteica e aumentar a lipólise por elevação do AMPc (monofosfato cíclico de adenosina), que leva a ativação da proteína kinase A (PKA) em adipócitos primários e diferenciados. A PKA ativa a lipase hormônio sensível (HSL) que fosforila a perilipina A, associada a gotículas

lipídicas. Esse processo libera a proteína CGI-58 que se liga e ativa a ATGL (lipase triglicéride adiposa). A ATGL faz a primeira hidrólise dos triacilglicerol (TAG), liberando um ácido graxo e um diacilglicerol (DAG), em seguida, a HSL que foi ativada pela PKA será a responsável por fazer a segunda hidrólise, liberando mais um ácido graxo e um monoacilglicerol. Por fim, a enzima MGL (lipase monoacilglicerol) será a responsável pela terceira e última hidrólise, liberando um ácido graxo e um glicerol. Os ácidos graxos serão transportados no sangue pela albumina até chegarem aos tecidos e o glicerol é conduzido ao fígado onde pode servir de substrato para a gliconeogênese. Porém, quando há um excesso de AGL na corrente sanguínea pelo aumento da lipólise mas não da  $\beta$ -oxidação, eles podem se acumular em órgãos e tecidos gerando gordura ectópica (Gaidhu et al., 2010; Glass e Olefsky, 2012; Alomar et al., 2015; Pedersen, 2018). Essa gordura ectópica causa alterações no metabolismo, como disfunção celular pela lipotoxicidade e a morte programada de células (apoptose). A secreção de citocinas pró-inflamatórias podem também promover a biossíntese de ceramidas resultando também em lipotoxicidade (Kirwan et al., 2017), o que inibe a ativação da Akt, uma vez que elas podem estimular a síntese da proteína fosfatase 2A (PP2A) para Akt desfosforilada, inibindo assim a sinalização da insulina (Glass e Olefsky, 2012; Palomer et al., 2018).

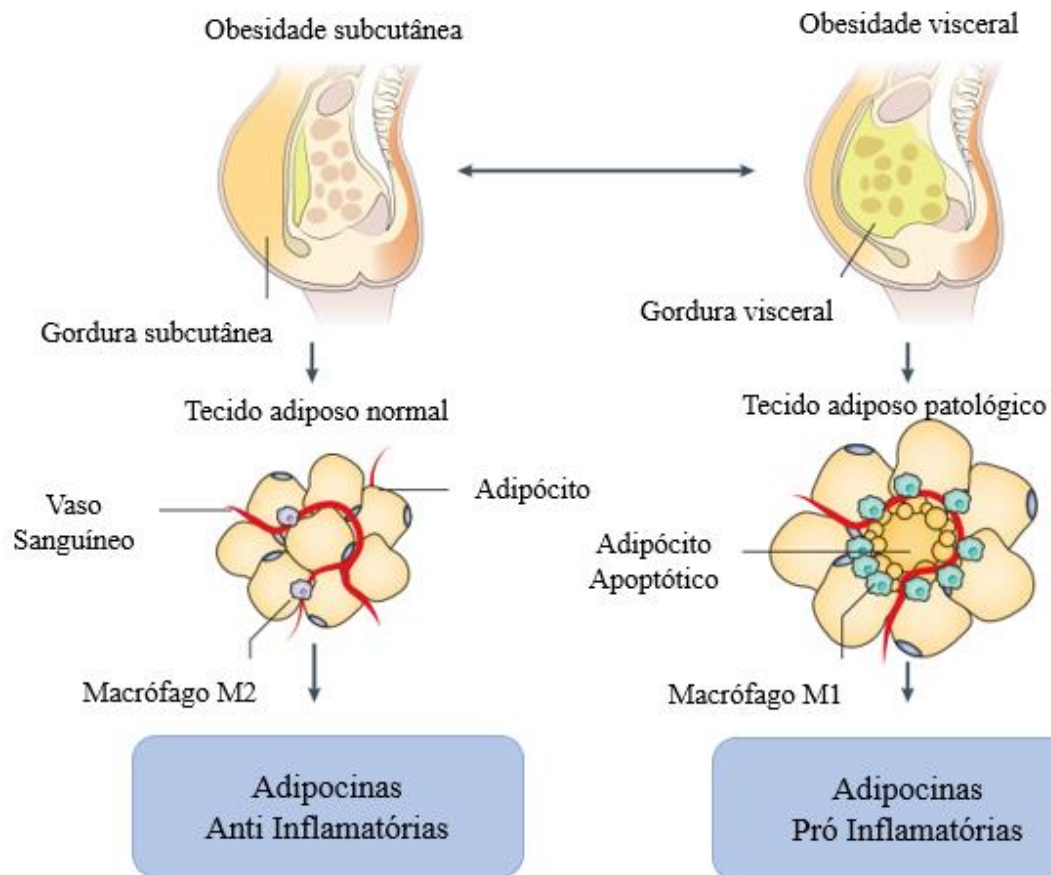
Estudos mostram ainda que as concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- $\alpha$  estão relacionadas com resistência à insulina e aumentam o risco de infarto do miocárdio em modelos animais e humanos (Reilly, 2007; Mathur e Pedersen e Febbraio, 2008), uma vez que a obesidade compromete a função endotelial pela diminuição da disponibilidade de NO e expressão de eNOS (Óxido Nítrico Sintase Endotelial, do inglês *Endothelial Nitric Oxide Synthase*) (Lovren et al., 2015). Além disso, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 são citocinas estimuladoras para a produção ERO e espécies reativas de nitrogênio (ERN) por macrófagos e monócitos (Fernández-Sánchez et al., 2011) (Figura 2).

A ingestão de nutrientes em excesso e/ou ácidos graxos saturados causa um quadro de inflamação pelo aumento de AGL na corrente sanguínea, resistência à leptina e aumento da infiltração de macrófagos do tipo M1 no tecido inflamado (Pereira-Lancha, 2010) (Figura 1). Macrófagos são fagócitos residentes dos tecidos e desenvolvem um papel importante na imunidade inata pois regulam a homeostase celular, limpam os debrís celulares, regulam angiogênese e remodelam a matrix extracelular em vários tecidos (Exley et al., 2014; Murphy et al., 2015). Em geral, a ativação de macrófagos é definida por dois estados de polarização diferentes: 1) Os macrófagos M2, residentes de tecidos, considerados anti-inflamatórios, preferem a oxidação de ácidos graxos mostrando taxas mais altas de massa mitocondrial e respiração mitocondrial, por isso a inibição da fosforilação oxidativa reduz o fenótipo M2; 2)



Os M1, que são os macrófagos classicamente ativados, pró-inflamatórios pois recrutam citocinas pró-inflamatórias e outras células imunes para resolução da inflamação. Esse fenótipo é mais glicolítico, apresentando alta taxa de captação de glicose e produção de lactato quando ativado, no entanto, sob estimulação prolongada também aumentam a expressão gênica mitocondrial e uma vez a respiração mitocondrial aumentada, aumentam também produção de ERO (Murray e Wynn, 2011; Tateya et al., 2013; Goh et al., 2016; Di Meo et al., 2017; Batatinha et al., 2019). O acúmulo de macrófagos e outros tipos de células imunes no TAB se correlaciona com um estado inflamatório crônico que acaba por prejudicar a função dos adipócitos (Amano et al., 2014).

A infiltração de macrófagos no tecido adiposo visceral está relacionada com a diminuição da concentração de HDL e a formação de partículas densas de LDL (Jung e Choi, 2014) e podem ser importantes mediadores dos efeitos de ácidos graxos saturados no remodelamento cardíaco (Alí et al., 2019). Inflamação e resistência à insulina estão relacionadas com doenças cardiovasculares ateroscleróticas provocando inflamação vascular (Reilly, 2007). Entretanto, estudos demonstram que os fatores de risco associados à obesidade não dependem somente do excesso de peso corporal em si, mas da distribuição desse excesso de gordura, uma vez que a gordura abdominal é um fator de risco significativo para doenças associadas à obesidade, pois a gordura visceral estimula estados pró-oxidantes e pró-inflamatórios (Manna e Jain, 2015) (Figura 1). A gordura visceral, está diretamente relacionada à quantidade de gordura epicárdica, ao aumento da resistência à insulina, aos níveis de triglicérides e à pressão arterial (Golbidi e Laher, 2012).



**Figura 1. Inflamação do tecido adiposo.** O acúmulo de gordura visceral leva à hipertrofia e hiperplasia do TAB e consequente infiltração de macrófagos M1 sinalizando para secreção de adipocinas pró-inflamatórias que levam ao desenvolvimento da inflamação crônica de baixo grau (Adaptado de González-Muniesa et al., 2017).

O excesso de nutrientes ingeridos e a inatividade física faz com que o adipócito sofra remodelação e proliferação e aumente em tamanho e número, resultando em uma condição de hipóxia tecidual e ativação do HIF-1 (fator induzível por hipóxia). Consequentemente, esse processo leva a um aumento da permeabilidade endotelial, fazendo com que os macrófagos do tipo M1 sejam recrutados por quimiotaxia pela MPC1 e migrem para os tecidos inflamados. Durante o processo inflamatório os macrófagos também sinalizam para secreção das citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) (Figura 1). Esse processo inflamatório é importante para limpeza de debris celulares, regeneração e resolução da inflamação, portanto a inflamação é indispensável para homeostase celular contra danos e patógenos, porém, quando ela se torna não resolvida, há uma maior liberação dessas citocinas pró-inflamatórias em detrimento da diminuição das anti-inflamatórias, como a IL-10 e a adiponectina, causando um quadro de inflamação persistente/crônica (Galic et al., 2010; Cildir et al., 2013; Kirwan et al., 2017).

## 1.2 ESTRESSE OXIDATIVO NA OBESIDADE

Na obesidade, a formação excessiva ERO e ERN induzem mudanças na expressão gênica de adipócitos e alterações no metabolismo lipídico (Farias et al., 2013). O aumento da produção de ERO tem sido associado à maior ativação de células do sistema imune, que aumentam a presença local de mediadores pró-inflamatórios (Pinho et al., 2017). A sobrecarga lipídica acelera o fluxo metabólico e a produção de ERO mitocondrial criando um estado mais oxidado no músculo esquelético de roedores e humanos. Portanto, ERO aumentam a permeabilidade do endotélio e promovem adesão de leucócitos no tecido adiposo (Fernández-Sánchez et al., 2011; Manna e Jain, 2015), levando à maior produção de radicais livres (RL) e ERO e ao quadro de estresse oxidativo (Hahn et al., 2014).

O estresse oxidativo é gerado por um desequilíbrio no sistema redox celular, onde a produção de agentes oxidantes, (RL e ERO) permanecem em excesso enquanto há uma diminuição dos agentes antioxidantes e isso pode causar danos celulares à macromoléculas e alterar vias de transdução de sinal (Hurrell e Hsu, 2017). RL são átomos ou moléculas instáveis que possuem um elétron não pareados na sua última órbita que na tentativa de recuperar sua estabilidade tendem a extrair elétrons de outras moléculas originando espécies ERO. Essas moléculas são produzidas em todos os sistemas biológicos por diferentes vias, possuem meia vida curta, mas são altamente reativas (Halliwell, 2011; Birben, et al., 2012). RL e ERO são produzidas pelo organismo em resposta ao metabolismo celular normal do oxigênio, que em condições moderadas e fisiológicas são essenciais para o organismo e para manutenção da homeostase celular pois regulam a função mitocondrial e a sinalização celular gerando equilíbrio entre fatores de transcrição e o sistema antioxidante, mas em condições excessivas podem danificar estruturas celulares (danos oxidativos) como DNA, (fragmentação do DNA - dano à estabilidade e integridade do DNA); lipídios (peroxidação lipídica – LPO); e proteínas (carbonilação proteica e quebra de grupos sulfidril) e assim alterar suas funções, contribuindo para o quadro de estresse oxidativo e condições patológicas (Birben et al., 2012; Farias et al., 2013; Mangge et al., 2014; Hurrell e Hsu, 2017; Usman e Volpi, 2018).

Em sistemas biológicos são produzidos uma variedade de agentes oxidantes como ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Outros radicais também podem ser gerados, incluindo o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) formado na presença de metais de transição como cobre e ferro, além do ácido hipocloroso (HClO), um importante bactericida gerado por meio da mieloperoxidase (MPO) e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) advindo da ligação entre o  $O_2^{\cdot-}$  e o óxido nítrico (NO). Para combater esses agentes oxidantes, o organismo conta com enzimas

antioxidantes que podem ser não enzimáticas como as vitaminas (C e E) e a glutathiona reduzida (GSH); e enzimáticas, como a enzima superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPX). A modulação da sinalização antioxidante endógena está associada ao Nrf-2 (fator de transcrição nuclear derivado de eritóide 2) induzida pelo elemento de resposta antioxidante (ARE) (Oh et al., 2017). Em condições normais Nrf-2 é inibido por Keap 1 (proteína citosólica acoplada ao Nrf-2), no entanto, durante condições de estresse oxidativo, a Keap 1 desacopla do Nrf-2 e ele é ativado e se transloca para o núcleo, onde se liga ao ARE e secreta enzimas antioxidantes (Abreu et al., 2017; Done et al., 2017; Di Meo et al., 2017; Souza et al., 2017; Mohan e Gupta, 2018).

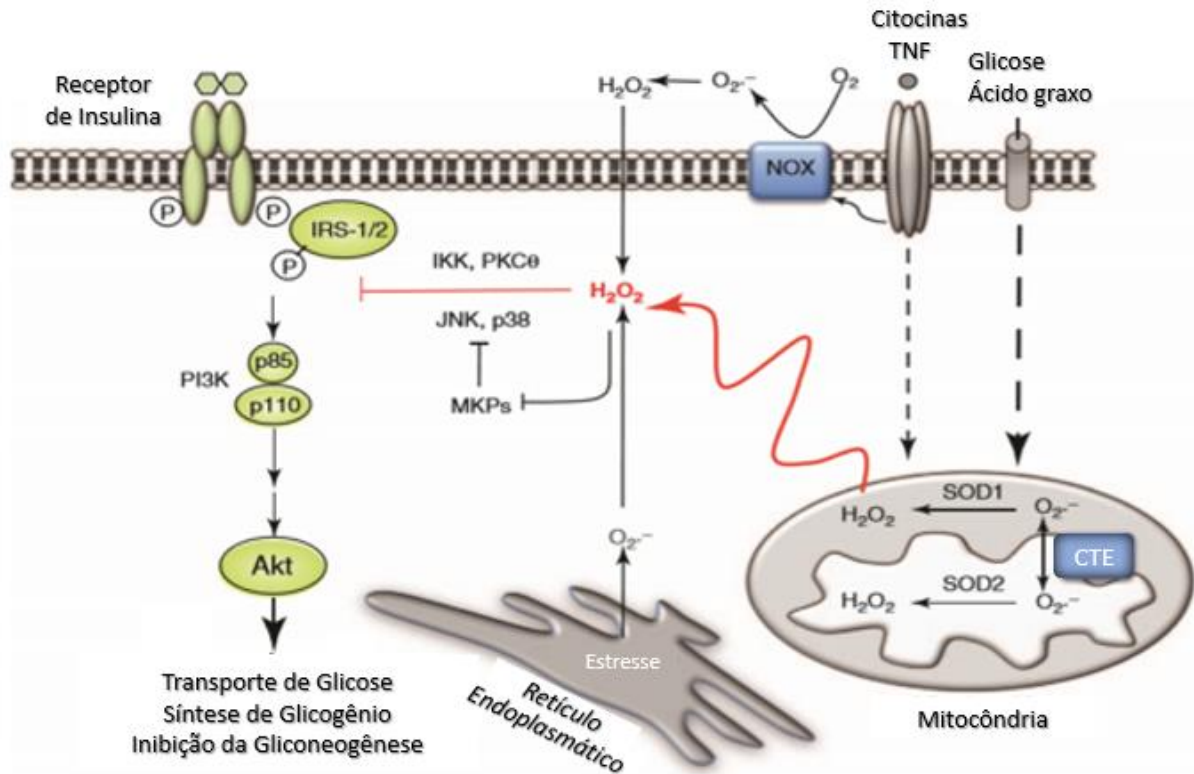
ERO podem ser geradas sob diferentes circunstâncias: i) via xantina oxidase (XO) – enzima que catalisa a oxidação de hipoxantina para xantina e a oxidação subsequente da xantina para ácido úrico e estão ativas em processos que envolvem isquemia e reperfusão; ii) ativação da NADPH oxidase (NOX) – explosão respiratória, processo conhecido como “*respiratory burst*” dado ao elevado consumo de oxigênio durante a resposta inflamatória devido à rápida liberação de ERO causada pela infiltração aumentada de células imunes no local da lesão (Figura 2); iii) e pela fosforilação oxidativa, que ocorre na mitocôndria para produção de ATP (energia), onde a produção de ERO se dá devido ao elevado fluxo de elétrons na cadeia de transporte mitocondrial pelo aumento das demandas energéticas, sendo esses dois últimos processos mais relacionados com o quadro de obesidade. (Hahn et al., 2014; Espinosa et al., 2016).

Embora as mitocôndrias sejam organelas essenciais por realizarem múltiplas funções e estarem presentes em todos os tipos de células, com exceção de alguns mamíferos, elas são também o principal local de formação de ERO, propensa à danos. É na mitocôndria que funciona o ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs) e a fosforilação oxidativa sintetizando grandes quantidades de ATP usando o gradiente eletroquímico gerado pela cadeia de transporte de elétrons (CTE) (Shadel e Horvath, 2015). Os complexos I, II e III são locais de geração de ERO pela transição de um elétron da NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo, inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide*) e da FADH<sub>2</sub> (Flavina Adenina Dinucleotídeo, do inglês *Flavin Adenine Dinucleotide*) para ubiquinona formando RL. As ERO também são formadas na transferência de elétrons de um doador redox para o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) no complexo IV para formação de água. A redução do oxigênio à água necessita de quatro elétrons por vez, formando assim duas moléculas de água, porém a molécula de O<sub>2</sub> pode ser reduzida por um elétron por vez, (quando um elétron reage “prematuramente” – devido ao aumento do fluxo de elétrons em resposta à altas taxas metabólicas aumentando o consumo de O<sub>2</sub> fazendo

com que haja escape de elétrons) e forma o  $O_2^{\cdot-}$ , um RL que pode ser convertido em uma ERO, o  $H_2O_2$ , pela atividade de uma enzima antioxidante mitocondrial, a SOD. O  $H_2O_2$  pode ser diretamente catalizado em água ( $H_2O$ ) e  $O_2$  pela atividade de duas enzimas antioxidantes a CAT e a GPX (Shadel e Horvath, 2015; Brand, 2016; Di Meo et al., 2017).

Na obesidade, o excesso de lipídeos leva ao aumento da inflamação com secreção de citocinas pró inflamatórias, infiltração exacerbada de macrófagos no tecido inflamado e ativação de NADPH oxidase, que por consequente ativação aumenta a produção do radical ânion superóxido e outras espécies reativas de oxigênio, que em excesso causam danos a macromoléculas em tecidos biológicos. Além disso, esse processo pode desencadear outras cascatas inflamatórias como a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NFkB) que transcreve mais citocinas pró inflamatórias perpetuando a inflamação e o quadro de estresse oxidativo, comprometendo também a via de sinalização da insulina (vincent e taylor, 2006).

Estudos demonstram que obesidade causa disfunção mitocondrial aumentando o nível de fissão devido aos AGL (Hurrle e Hsu, 2017). A diminuição na oxidação de ácidos graxos mitocondriais causada por uma disfunção mitocondrial e diminuição da biogênese leva ao acúmulo de níveis aumentados de acil-CoA e DAG. Esse acúmulo interfere na sinalização da insulina levando ao aumento na produção de oxidantes mitocondriais (Di Meo et al., 2017). Assim como a sinalização citocinas, as ERO modificam a sinalização da insulina, uma vez que o excesso de  $H_2O_2$  altera vias de sinalização e ativa proteínas quinases como IKK  $\beta$  (inibidor de NFkB) e JNK (proteína quinase c-Jun N-terminal, pertencente à família das quinases ativadas por mitógenos – MAPK que respondem à sinais de estresse como inflamação e ERO), que catalisam a fosforilação de resíduos de serina no IRS-1 inibindo sua atividade por diminuir a fosforilação de resíduos de tirosina do IRS-1 (Gregor e Hotamisligil, 2011; Glass e Olefsky, 2012; Di Meo et al., 2017) (Figura 2).



**Figura 2. Obesidade e espécies reativas.** Na obesidade, o excesso de ácidos graxos acelera o fluxo metabólico e pode causar disfunção mitocondrial e aumentar a produção de agentes oxidantes em resposta à diminuição das enzimas antioxidantes, bem como a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias e a consequente ativação de NADPH oxidase pode levar ao quadro de estresse oxidativo e ativação de quinases capazes de alterar e inibir vias metabólicas importantes, como a via de resistência à insulina (Adaptado de Tiganis, 2011).

Estresse oxidativo também tem sido clinicamente relacionado a progressão de doenças cardíacas e alterações no tecido cardíaco (Pignatelli et al., 2018; Camera et al., 2019), sendo um dos principais mecanismos causadores de disfunção endotelial (caracterizada pela diminuição do potencial vasodilatador e aumento da atividade inflamatória) (Doroszko et al., 2018), envolvido não apenas na aterosclerose como também na insuficiência cardíaca (Tsutsui et al., 2011). O aumento de ERO e lipoproteína oxidada de baixa intensidade (LDL) aumentam o risco de doenças cardiovasculares (Malekmohammad et al., 2019). Evidências demonstram ainda que a deficiência no sistema antioxidante torna o coração vulnerável à lesão de isquemia-reperfusão em modelos animais (Barbosa et al., 2012). Estudos apontam que o exercício físico regular retarda o acúmulo de danos mediados por ERO por melhorar os mecanismos de proteção antioxidante no miocárdio (Golbidi e Laher, 2012).

### 1.3 DIETA E PROCESSO INFLAMATÓRIO

A obesidade é uma doença multifatorial composta por fatores econômicos, psicológicos e genéticos, mas o que mais contribui para taxa de prevalência é a dieta. Estudos apontam que a restrição das calorias da dieta é importante para perda de peso e melhora do quadro inflamatório da obesidade, mas salientam ainda que a composição da dieta tem se mostrado um fator importante (Tateya et al., 2013).

Em modelo experimental, uma dieta regular, que contém menos de 20% de gordura, os níveis de ERO oscilam entre os estados de fome e saciedade e camundongos mantêm uma correlação positiva entre os níveis hipotalâmicos de ERO e os níveis circulantes de leptina. No entanto, quando os animais são colocados em dietas densas em calorias maiores que 40% de gordura, o controle homeostático do metabolismo energético é desregulado (Shadel e Horvath, 2015). Estudos mostram que dietas ricas em carboidratos e com baixo teor de lipídeos não são tão eficientes quanto dietas ricas em gordura e mais pobres em carboidratos na indução da obesidade (Hariri e Thibault, 2010). Animais alimentados por um longo período com dieta rica em gordura desenvolvem maior índice de adiposidade associada à resistência à insulina e inflamação sistêmica crônica de baixo grau, enquanto o maior consumo de uma dieta rica em carboidratos refinados contribui para a inflamação aguda e sustentada, bem como disfunções metabólicas (Maioli et al., 2016). Maioli et al. (2016) também demonstraram que em ratos a dieta cafeteria que contém quantidades elevadas de açúcar e gordura derivadas de “fast foods” e refrigerantes resultam em ganho de peso rápido com consequente aumento da massa adiposa e um estado pré-diabético caracterizado por intolerância à glicose e à insulina. Outro estudo comparou os efeitos da dieta rica em gordura associada à dieta rica em carboidratos refinados demonstrando maior percentual de gordura, hiperglicemia, hipercolesterolemia e perfil inflamatório do que a gordura ou carboidratos isolado (Maioli et al., 2016; Collins et al., 2018).

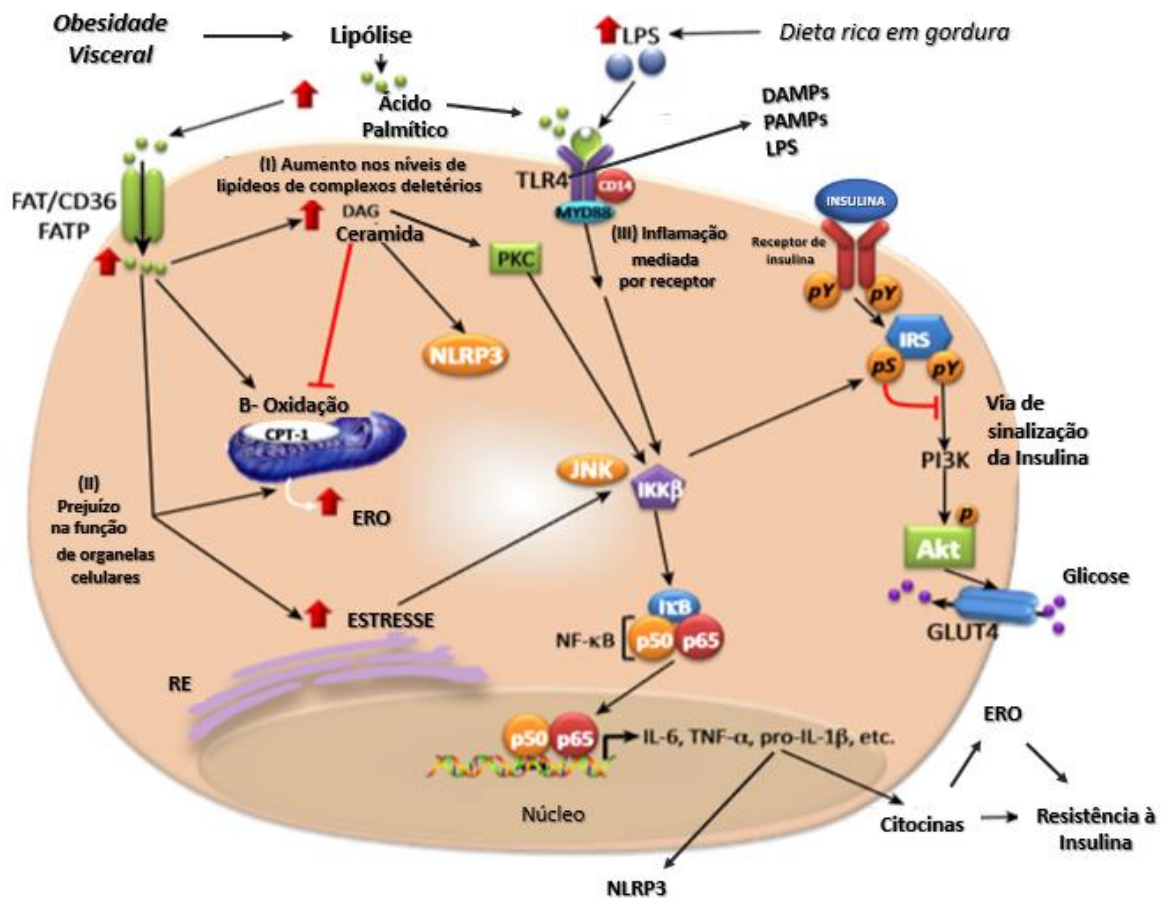
Estudos mostram também que ratos submetidos à dieta hiperlipídica (58% do total de calorias – gordura saturada) por 7 semanas desenvolveram maior índice de adiposidade do que animais alimentados com dietas ricas em gorduras ômega 3 e 6 (Pereira-Lancha et al., 2012), isso porque ácidos graxos polinsaturados possuem maiores taxas oxidativas assim como os monoinsaturados possuem maiores efeitos termogênicos quando comparadas aos ácidos graxos saturados, como o palmitato (Coelho et al., 2011). No entanto, Heydemann (2016) afirma que embora a maioria dos estudos experimentais induzem à obesidade com dieta hiperlipídica é importante analisar o tempo de duração da dieta, bem como a idade, genética do animal e a composição dos ácidos graxos.

A dieta hiperlipídica mostra-se eficaz na indução da obesidade (So et al., 2011), não só em humanos como também em modelos animais (Hariri e Thibault, 2010). Estudos experimentais têm demonstrado que o consumo de uma dieta rica em lipídeos durante 8 semanas produz um aumento significativo no teor de gordura em diferentes locais do corpo, o que permite explorar mecanismos associados à doenças metabólicas e cardiovasculares durante o desenvolvimento da obesidade (Buettner et al., 2007; Furnes et al., 2009; Hariri e Thibault, 2010; Gamez-Mendez et al., 2015; Pinho et al., 2017).

A obesidade causa disfunção do metabolismo dos lipídeos comprometendo a sinalização de insulina pelo aumento dos AGL e acaba ativando alguns receptores de reconhecimento padrão (PRRs) (Mcardle et al., 2013). O receptor de membrana Toll Like 4 (TLR4) é o PRRs melhor caracterizado. Esse receptor desencadeia uma cascata de sinalização inflamatória por meio do desacoplamento do IKK  $\beta$  do NF- $\kappa$ B ativando-o e fazendo com que este por sua vez migre para o núcleo e transcreva citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  e IL-18); ativação do inflamassoma NLRP3 (receptor de reconhecimento padrão do tipo NOD com domínio em pirina); produção de ERO; estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. O TLR4 é ativado também por lipossacarídeos (LPS) e outros PAMPs (padrões moleculares associados à patógenos como, bactérias, micróbios) e DAMPs (padrões moleculares associados à danos, sinalizam perigo, situações de estresse e lesão, e além dos ácidos graxos saturados, são DAMPs também as ceramidas, cristais de ácido úrico, entre outros), tendo um papel importante no sistema imune (Glass e Olefsky, 2012; Ringseis et al., 2015; Goh t al., 2016; Palomer et al., 2018; Yamashita et al., 2018) (Figura 3).

Na obesidade o palmitato é um dos ácidos graxos livres mais presentes no plasma (Lovren et al., 2015) e na gordura epicárdica (Alí et al., 2019). O coração utiliza ácidos graxos AGL como fonte de energia, onde em condições normais há um equilíbrio entre a captação lipídica cardíaca e a oxidação, porém o acúmulo crônico de gotículas lipídicas no miocárdio pode afetar a função cardíaca e causar remodelamento do cardiomiócito (Heydemann, 2016; Alí et al., 2019). Quando há um excesso de ácido palmítico intracelular que excede a oxidação mitocondrial, esses ácidos graxos são convertidos em DAG e ceramidas. Esses metabólitos ativam a proteína kinase C (PKC), que fosforila o receptor de insulina (IRS-1) em resíduos de serina comprometendo a via de sinalização da insulina e ativam o complexo inflamassoma NLRP3, perpetuando ainda mais a inflamação (Palomer et al., 2018).





**Figura 3. Ácidos graxos saturados e inflamação.** Os ácidos graxos saturados, principalmente o ácido palmítico leva ao desenvolvimento de inflamação e resistência à insulina de várias formas. I) O excesso de ácido palmítico faz com que essa demanda não possa ser toda oxidada, aumentando DAG e ceramidas e consequente lipoxicidade, e morte celular além de comprometer a via de sinalização da insulina por ativação da PKC que ativa também NFκB. Além disso, ceramidas também causam ativação do inflamassoma NLRP3 que libera IL-1β e PP2A que inibe a Akt. II) AGL causa disfunção mitocondrial e aumento da produção de ERO e ativação de vias inflamatórias como NFκ-B e JNK. III) Ácido palmítico pode ativar o TLR4 levando ao aumento da via IKKβ-NFκB (Adaptado de Palomer et al., 2018).

Embora esse mecanismo de ativação do TLR4 por ácidos graxos saturados seja bem descrito na literatura, estudos recentes têm demonstrado que os ácidos graxos saturados não ativam diretamente TLR4 (Murumalla et al., 2012), e que esse receptor regula a inflamação induzida por dieta alterando o metabolismo dos macrófagos. Lancaster et al., (2018) afirmam que ácidos graxos saturados não são agonistas de TLR4, mas a sinalização inflamatória induzida por ácidos graxos saturados é dependente do receptor. Assim, *TLR4-dependent priming* pode ser necessário para ácidos graxos saturados ativarem a resposta inflamatória, ou seja, os ácidos graxos fornecem um segundo “sinal” que ativa a sinalização inflamatória após um sinal inicial do TLR4 dependente da ativação de macrófagos, desempenhando um papel importante para o imunometabolismo. A obesidade estimula o sinal de TLR4 dependente da ativação de macrófagos via o papel inflamatório sistêmico da microbiota intestinal. Dietas ricas em gordura saturada alteram a composição da microbiota aumentando a absorção intestinal de produtos

microbianos derivados do intestino que levam ao aumento da concentração de LPS circulantes o que pode desencadear inflamação no tecido adiposo e a consequente ativação de macrófagos como resultado de uma reprogramação metabólica, de maneira dependente da sinalização inflamatória via TLR-4 (Lancaster et al., 2018). Ou seja, certos “sinais” como o aumento de LPS circulante (ligante endógeno de TLR4) induzido pela obesidade ativam macrófagos residentes no TAB, estimulando que eles adotem o fenótipo classicamente ativado M1. Esta reprogramação do metabolismo dos macrófagos dependente de TLR4 torna os macrófagos residentes no tecido adiposo sensíveis à estimulação subsequente com ácidos graxos saturados, e induzem uma sinalização inflamatória adicional, “second hit”, porém, os receptores que medeiam a captação de ácidos graxos em macrófagos ainda não estão bem elucidados (Morris, 2018).

Ainda assim, estudos indicam que lipídeos, principalmente grandes quantidades de ácidos graxos saturados, desempenham um papel importante no desenvolvimento da obesidade, pois o excesso de tecido adiposo acaba induzindo à outras complicações inflamatórias como o acúmulo de lipídeos ectópicos. Estudos apontam também que mais importante que a quantidade de ácidos graxos consumidos é a composição dos mesmos, uma vez que ácidos graxos saturados promovem inflamação crônica de baixo grau, resistência à insulina e doenças cardiovasculares (Glass e Olefsky, 2012; Yamashita et al., 2018). Em contra partida, outros estudos apontam que a quantidade de nutrientes é o que realmente importa, sendo o balanço energético a estratégia para reduzir o peso corporal. O consumo energético e o gasto devem se equivaler para não haver ganho de peso, ou seja, é importante um equilíbrio entre ingestão e oxidação de nutrientes e o balanço entre esses nutrientes (Krishnan e Cooper, 2013).

De qualquer forma, intervenções no estilo de vida são recomendados para o tratamento da obesidade com restrição energética da dieta, no entanto, ainda assim a obesidade continua a crescer em proporções epidêmicas. Estudos recentes apontam que a perda de peso que parece ser eficaz por conta das dietas pode em contra partida acabar sendo prejudicial, pois dietas podem causar o “reganho” de peso, como uma função auto reguladora, proposta por uma "adaptação metabólica" ou "termogênese adaptativa" (AT), que refere-se à diminuição do gasto energético de repouso (diminuição da taxa metabólica basal) após restrição calórica e perda de peso, no entanto, os mecanismos ainda são inconclusivos (Tseng et al., 2010; Dayan, 2019). Por outro lado, um estudo que comparou vários tipos de dietas mostrou que a intervenção eficaz é a aderência da dieta. Em um ano de estudo, cada dieta popular reduziu o peso corporal e vários fatores de risco cardíaco, no entanto, as taxas gerais de adesão à dieta foram baixas, contudo, o aumento da adesão tem sido associado com maior perda de peso e reduções de fator de risco

cardíaco para cada grupo de dieta (Dansinger et al., 2005). Além disso, estudos afirmam que a perda de peso melhora quase todas as comorbidades associadas à obesidade e marcadores metabólicos, independentemente da composição dos macronutrientes da dieta, mas os indivíduos variam em preferências e capacidade de aderir à diferentes dietas (Thom e, Lean, 2017; Howell e Kones, 2017).

Muitos estudos tem demonstrado o efeito de dietas ricas em gordura e dietas ricas em carboidrato/açúcar ou a combinação de ambos induzindo obesidade (Faulks et al., 2006; Xie et al., 2007; Vieira et al., 2009; Hariri e Thibault, 2010; Lijnen et al., 2012; Pereira-Lancha et al., 2012; Cui et al., 2013; Wasinski et al., 2013; Shadel e Horvath, 2015; Cho et al., 2016; Maioli et al., 2016; Davis et al., 2017; Collins et al., 2018), porém, pouco se conhece sobre um programa alimentar em animais com troca de dieta baseado na redução do percentual de gordura e calorias de uma dieta hiperlipídica, altamente calórica, na função metabólica e cardíaca de animais obesos frente à parâmetros oxidativos e inflamatórios.

#### 1.4 PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NA OBESIDADE

Um estilo de vida sedentário pode levar ao acúmulo de gordura visceral e ativação de vias inflamatórias que aumentam o risco de desenvolver doenças crônicas relacionadas ao estilo de vida e que compõem o quadro de síndrome metabólica. Entretanto, o exercício físico tem sido apontado como uma importante intervenção terapêutica para prevenção e tratamento de várias doenças, incluindo a obesidade. O exercício diminui o peso corporal, regula lipases e induz um perfil anti-inflamatório e antioxidante, gerando adaptações metabólicas e mitocondriais, melhorando a função de vários órgãos (Farias et al., 2013; Oh et al., 2016; Antunes et al., 2018).

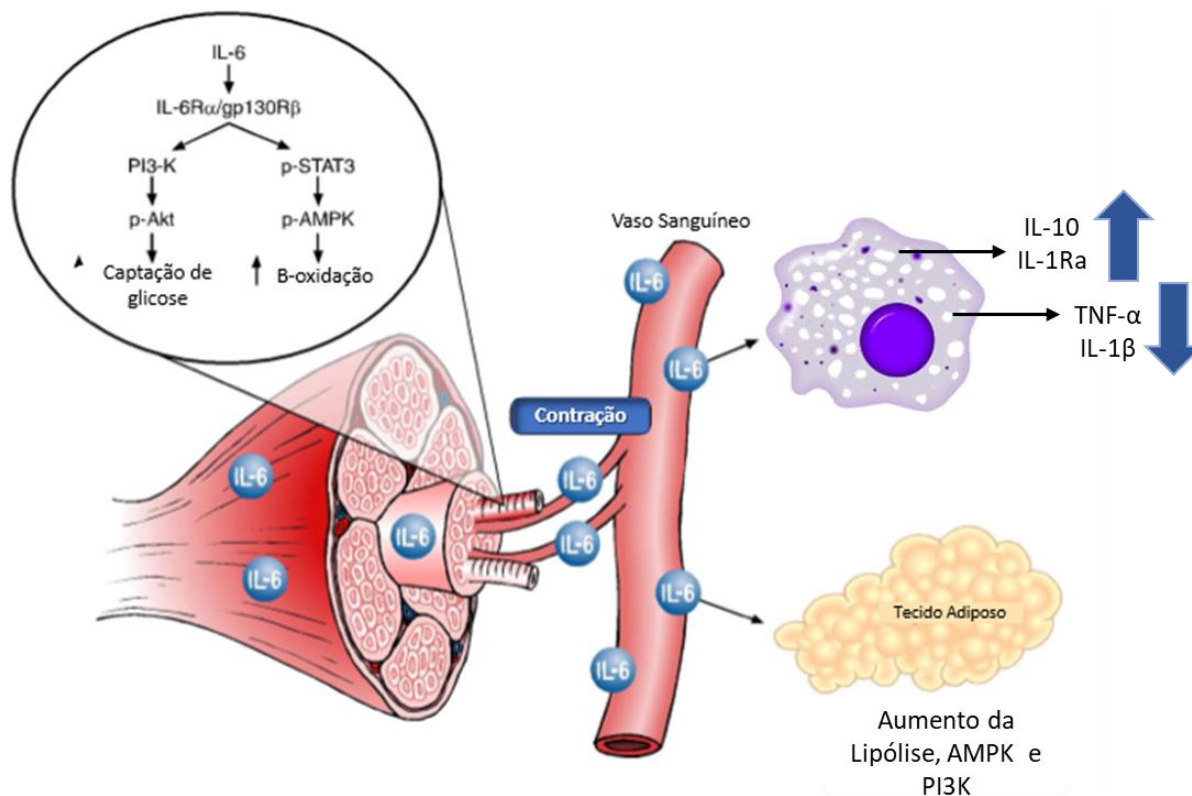
É importante ressaltar que exercício físico é diferente de atividade física, uma vez que, atividade física se enquadra em qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos e que requerem gasto de energia, incluindo atividades realizadas durante o trabalho, brincadeiras e realização de tarefas domésticas, enquanto o exercício físico é uma atividade planejada, estruturada e repetitiva que visa melhorar ou manter componentes da aptidão física. O exercício físico como um programa estruturado, associado à uma dieta saudável, é recomendado para potencializar o tratamento e prevenção da obesidade e outras doenças crônicas incluindo diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias, hipertensão, disfunção endotelial, e doenças cardiovasculares (WHO, 2018).

A obesidade está associada à remodelação do músculo cardíaco (Alí et al., 2019) e esquelético causando disfunção muscular; turnover anormal de proteína; redução na captação de glicose; alteração no metabolismo lipídico e disfunção mitocondrial. O músculo esquelético é o maior órgão do corpo humano (Heo et al., 2018), e nas últimas décadas tem se descoberto que ele é um órgão endócrino, secretor de citocinas chamadas de miocinas. Essas miocinas são responsáveis pelo crescimento muscular, também denominado de miogênese e regeneração, além de se comunicar com outros órgãos como o tecido adiposo e fígado (Pedersen et al., 2007).

Estudos apontam que o exercício regular, crônico, tem sido associado com redução de marcadores inflamatórios como IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  e que o exercício físico aeróbio associado com resistência aumenta citocinas anti-inflamatórias como a interleucina 10 e 4 (IL-10 e IL-4) (Golbidi e Laher, 2012; Tateya et al., 2013). Está bem estabelecido os benefícios do exercício físico regular, que na obesidade protege principalmente contra acúmulo de gordura abdominal e a inflamação sistêmica crônica. O mecanismo pelo qual o exercício exerce esse papel anti-inflamatório importante parece se dar principalmente por meio da liberação da IL-6 durante a contração muscular (que exerce efeito paradoxo ao TAB) estimulando a produção de IL-10 (citocina anti-inflamatória responsável por inibir a síntese de TNF- $\alpha$ ) e o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1ra) que inibe IL-1 $\beta$  (Oh et al., 2016; Pedersen, 2017 e 2018; Cabral-Santos et al., 2018).

A resposta sistêmica de IL-6 depende de alguns fatores, como duração e intensidade do exercício, tipo de exercício e a massa muscular envolvida, uma vez que exercícios que envolvem grandes grupos musculares induzem maior aumento de IL-6 no plasma bem como exercícios de maior duração (Pedersen, 2018). Além disso, o baixo nível de glicogênio muscular acentua ainda mais síntese de IL-6 produzida pelo exercício e tem sido sugerido que a epinefrina pode estimular a transcrição do gene da IL-6 via estimulação  $\beta$ -adrenérgica da PKA (Pedersen e Febbraio, 2008; Pedersen, 2018).

A IL-6 também aumenta atividade da AMPK e conseqüentemente maior oxidação de lipídios pelo aumento da  $\beta$ -oxidação e também leva à maior captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo pela ativação de PI3K (Pedersen, 2017) (Figura 4). Além do exercício físico aumentar a expressão de AMPK aumenta também a expressão de PGC-1 $\alpha$  (coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma) que leva conseqüentemente ao aumento da biogênese mitocondrial, permitindo maior oxidação lipídica pela mitocôndria (Goh et al., 2016).



**Figura 4. Efeito anti-inflamatório do exercício.** O músculo esquelético é um órgão endócrino que expressa e libera miocinas na circulação em resposta a contrações musculares. Ambos os tipos de fibra (I e II) expressam IL-6 que exercem efeitos localmente (dentro da fibra muscular) e periféricamente em vários órgãos atuando de maneira autócrina e parácrina sinalizando através da ligação entre gp130Rβ/IL-6Rα para resultar na ativação de AMPK e/ou PI3K e consequentemente aumentar a captação de glicose e a oxidação de gordura. IL-6 estimula a produção de IL-10 e do antagonista do receptor de IL-1. A síntese de TNF-α é inibida pela estimulação de IL-10 muscular e IL-1β é inibida pela ativação do IL-1ra (Adaptado de Pedersen e Febbraio, 2008).

O exercício de força parece regular também outras citocinas anti-inflamatórias, como a IL-15 capaz de reduzir o tecido adiposo por aumentar a lipólise (Pedersen, 2017). O exercício físico também melhora a captação de glicose e a sensibilidade à insulina associadas em partes com o aumento da expressão de adiponectina tanto em humanos quanto em animais (Goh et al., 2016), e é capaz de inibir a ativação da via IKK/NFκB (Ringseis et al., 2015). Além desses efeitos anti-inflamatórios, o exercício físico regular é responsável pela hipertrofia músculo esquelética e “normalização” da apoptose. A apoptose em condições fisiológicas desempenha um papel importante na regulação do desenvolvimento, crescimento e homeostase dos tecidos, mas patologicamente a apoptose excessiva tem um papel negativo na manutenção da função muscular (Heo et al., 2018).

A prática de exercício regular protege contra doenças inflamatórias não só por exercer efeito anti-inflamatório, mas também pelo seu efeito antioxidante (Zanchi et al., 2012; Goh et al., 2016; Pedersen, 2018). ERO e ERN são produzidas durante o exercício fisiologicamente e podem mediar a resposta adaptativa ao exercício no músculo esquelético

(Merry e Ristow, 2016). Estudos apontam que o exercício é capaz de ativar Nrf-2. Isso porque o exercício físico agudo também induz estresse oxidativo, mas a prática regular de exercício é capaz de aumentar a demanda de agentes antioxidantes melhorando o equilíbrio redox pela regulação positiva das defesas endógenas em vários tecidos como: músculo esquelético, coração, fígado, cérebro e outros (Done et al., 2017). É importante ressaltar que o exercício cria também um estado oxidativo benéfico em relação ao aumento de eNOs em animais e humanos e enzimas antioxidantes que consequentemente alteram as concentrações plasmáticas de NO. Estudos sugerem que o aumento da fosforilação da óxido nítrico sintase induzível (iNOS) é benéfico para doenças coronárias uma vez que essa proteína, juntamente com a AMPK, é responsável pela fosforilação da eNOS durante o exercício e representa um importante mecanismo de adaptação ao exercício crônico (Golbidi e Laher, 2012; Fallahi et al., 2015; Antunes et al., 2016). Segundo Boardman et al. (2017), o exercício físico não é apenas uma abordagem terapêutica potente e importante para diversas doenças crônicas, mas também crucial para melhorar o desenvolvimento da disfunção cardíaca em modelos animais diabéticos e obesos. Esse efeito protetor do exercício regular pode ser mediado tanto pela redução da massa adiposa visceral quanto pela indução de um ambiente anti-inflamatório a cada sessão de exercício (Goh et al., 2016).

Durante muito tempo o exercício aeróbico vem sendo recomendado para perda de peso, enquanto o exercício de resistência para ganho de massa muscular e força. As adaptações fisiológicas ao exercício aeróbico e resistido são demonstradas nitidamente diferentes onde o exercício aeróbico melhora as adaptações cardiovasculares que aumentam o pico de consumo de oxigênio sem alterar significativamente a força, enquanto o exercício resistido melhora as adaptações neuromusculares que aumentam a força sem alterar significativamente o pico de consumo de oxigênio (Villareal et al., 2017). Há poucos dados sobre o treinamento resistido associado ao tratamento da obesidade, contudo, esse tipo de exercício combinado com um déficit calórico parece ser uma estratégia interessante. Estudos mostram que os efeitos do treinamento resistido podem ser viáveis para reduzir a gordura corporal preservando a massa magra em obesos (Miller et al., 2018).

Embora González-Muniesa et al. (2017) demonstrem que o exercício aeróbico versus de resistência ou atividade de alta intensidade versus atividade de baixa intensidade parece não afetar a perda de peso total, recentemente tem se investigado o exercício resistido, que parece ser eficaz em diminuir a gordura abdominal podendo contribuir para diminuição da inflamação e de estresse oxidativo em coração de animais obesos (Kwon et al., 2010). Já existem evidências de que o treinamento resistido também afeta distúrbios metabólicos e

inflamação na obesidade (Mardare et al., 2016), sendo eficaz para o tratamento por aumentar componentes da aptidão física incluindo o aumento de massa magra (Said et al., 2018). O aumento de massa muscular tem sido associado com maior sensibilidade à insulina e consequentemente benefício no controle glicêmico (Shehab e Abd, 2011). Outros estudos demonstram ainda que o exercício resistido aumenta força e o número de miofibrilas (fibra rápida tipo II) sendo capaz de diminuir a porcentagem de hemoglobina glicosilada e melhorar os perfis metabólicos e lipídicos, diminuindo o risco de doença cardiovascular em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 e redução da gordura abdominal.

Um estudo com treinamento resistido de 10 semanas foi capaz de melhorar a respiração mitocondrial na mesma medida que o treinamento aeróbico no músculo esquelético de adultos magros, anteriormente sedentários e além disso, a peroxidação lipídica e o dano em DNA foi reduzido enquanto a atividade das enzimas antioxidantes foi aumentada após treinamento de resistência em adultos mais velhos (Maluf, 2004; Di Meo et al., 2017; Fiuza-Luces, et al., 2018). Outro estudo aponta ainda que o exercício resistido foi capaz de melhorar a densidade mineral óssea e a perda de massa magra em velhos obesos submetidos à um programa de controle de peso com sessões educativas sobre dieta saudável (déficit de energia de 500 a 750 kcal por dia com 1g de proteína por kg de peso corporal) (Villareal et al., 2017). Além disso, o treinamento resistido também reduz o risco de doenças cardiovasculares em adultos saudáveis, diminuindo a pressão arterial, os níveis de gordura corporal e as concentrações plasmáticas de triglicérides (Fiuza-Luces, et al., 2018).

De acordo com Hong et al. (2017), o exercício físico pode promover resultados expressivos em diferentes tecidos, embora no coração ainda existam diferentes processos biológicos associados à obesidade que necessitam ser investigados principalmente em relação ao treinamento resistido.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Verificar os efeitos da redução calórica da dieta e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros de resistência à insulina, morfologia do tecido adiposo branco, estresse oxidativo e inflamação em camundongos com obesidade induzida por dieta.

#### **2.1.2 Objetivos Específicos**

- Verificar os efeitos da redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre indicadores de resistência à insulina, peso corporal total e índice de adiposidade em camundongos com obesidade induzida por dieta.
- Verificar os efeitos da redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre a morfologia do tecido adiposo branco inguinal em camundongos com obesidade induzida por dieta.
- Verificar os efeitos da redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros inflamatórios no tecido cardíaco de camundongos com obesidade induzida por dieta.
- Verificar os efeitos da redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros de estresse oxidativo em tecido cardíaco de camundongos com obesidade induzida por dieta.



### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, sob protocolo número 067/2014-2, tendo os procedimentos em conformidade com o comitê, respeitando os princípios éticos na experimentação animal.

#### 3.2 AMOSTRA

Foram utilizados camundongos Swiss machos de 60 dias de idade fornecidos pelo Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, Criciúma/SC – Brasil. Os animais foram mantidos em um ciclo de 12h claro/escuro à  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  com umidade de 70%. As dietas e água estavam disponíveis *ad libitum*.

Primeiramente os animais foram randomizados em apenas 2 grandes grupos para indução da obesidade (protocolo de obesidade induzida por dieta) durante 17 semanas:

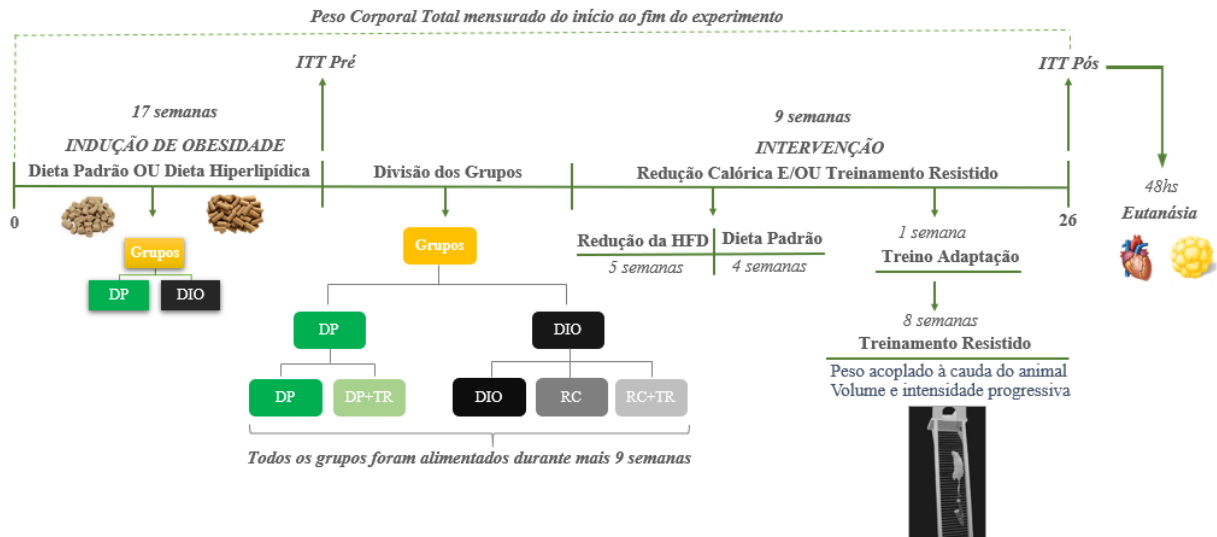
- Grupo Dieta Padrão (DP) (n=12);
- Grupo Obesidade Induzida por Dieta (DIO, do inglês *diet-induced obesity*) (n=18);

Após 17 semanas do protocolo de obesidade induzida por dieta, foi realizado um teste de tolerância à insulina (ITT, do inglês *insulin tolerance test*) e os animais foram divididos em 5 grupos experimentais (n=6) para iniciar os protocolos de intervenção terapêutica (redução calórica associada ou não ao treinamento resistido) por mais 9 semanas (Figura 5).

1. O Grupo Dieta Padrão foi dividido em:
  - Grupo Dieta Padrão (DP);
  - Grupo Dieta Padrão + Treinamento Resistido (DP+TR);
2. O Grupo Obesidade Induzida por Dieta foi dividido em:
  - Grupo Obesidade Induzida por Dieta (DIO);
  - Grupo Redução Calórica (RC);
  - Grupo Redução Calórica da Dieta + Treinamento Resistido (RC+TR).

### 3.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Os animais foram submetidos à um protocolo de obesidade induzida por dieta e posteriormente aos protocolos de intervenção terapêutica com redução calórica da dieta associada ou não ao treinamento resistido, conforme desenho experimental (Figura 5).



**Figura 5. Desenho Experimental.** Grupo Dieta Padrão (DP); Grupo Dieta Padrão + Treinamento Resistido (DP+TR); Grupo Obesidade Induzida por Dieta (DIO); Grupo Redução Calórica (RC); Grupo Redução Calórica + Treinamento Resistido (RC+TR); Teste de Tolerância à Insulina (ITT) pré e pós-intervenção.

### 3.4 DIETA

Os animais foram alimentados por 17 semanas *ad libitum* com ração comercial padrão para roedores – Grupo DP, enquanto os animais do Grupo Obesidade Induzida por Dieta – Grupo DIO foram alimentados com dieta hiperlipídica (HFD, do inglês *High Fat Diet*) para realização do protocolo de indução de obesidade.

Após 17 semanas do protocolo de obesidade induzida por dieta e após o ITT foi feita a divisão dos grupos conforme acima descritos, e os animais foram submetidos às intervenções terapêuticas (redução calórica associada ou não ao treinamento resistido) por mais 9 semanas. Assim sendo, os grupos DP e DIO foram alimentados durante todo o período do estudo (26 semanas) com as respectivas dietas. O grupo RC foi submetido ao protocolo de redução calórica durante 9 semanas, enquanto os grupos DP+TR e RC+TR foram submetidos às respectivas dietas associadas ao treinamento resistido também durante 9 semanas.

### 3.4.1 Composição das dietas

Com base nas tabelas 1, 2 e 3 referentes à composição das dietas é possível perceber que o protocolo de obesidade induzida por dieta do presente estudo é baseado em uma dieta com alto teor de lipídeo que conseqüentemente a torna hipercalórica possuindo 5,9kcal/g comparada à dieta padrão com 3,3kcal/g. A dieta padrão possuía 24% de lipídeos de origem vegetal, com quantidades insignificantes de gordura saturada (de acordo com responsável técnico e controle de qualidade da Puro Trato Nutrição Animal). A dieta hiperlipídica foi composta de 59% de gordura, sendo 88,6% de gordura saturada proveniente de banha de porco (gordura de origem animal – ácido graxo de cadeia longa) e o restante de óleo de soja. O protocolo de redução calórica da dieta foi feita de forma gradual, onde, durante 5 semanas foi retirada 1kcal/g da composição da dieta hiperlipídica, passando para 4,9kcal/g e tendo uma redução de gordura para 35% com diminuição de gordura saturada para 83,8% e; mais 4 semanas essa redução foi a nível de dieta padrão com 3,3kcal/g e 24% de gorduras.

#### 3.4.1.1 Dieta Padrão

A dieta padrão foi adquirida da Puro Trato Nutrição Animal (Puro Lab 22PB) Santo Augusto/RS – Brasil e composta por baixo teor lipídico, sendo 27% de calorias provenientes de proteínas, 24% de gorduras e 49% de carboidratos totalizando 3,3kcal/g (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição da Dieta Padrão adquirida da Puro Trato Nutrição Animal

**AMOSTRA DE PURO LAB 22PB**

ENSAIO REALIZADO	UNIDADE	RESULTADO (MN*)
Umidade	%	11,99
Extrato Etéreo A	%	4,12
Extrato Etéreo B	%	4,63
Proteína Bruta	%	22,53
Fibra Bruta	%	3,73
Matéria Mineral	%	5,32
Amido	%	33,4
Açúcares	%	7,62
FDN – fibra detergente neutro	%	9,69
FDA – fibra detergente ácido	%	6,67

\*MN: Matéria Natural

\*Extrato Etéreo – Gorduras, óleos, ceras, ácidos orgânicos, pigmentos, esteróis, vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e qualquer substância solúvel em éter.

## 3.4.1.2 Dieta Hiperlipídica

A dieta hiperlipídica foi adquirida da Prag Soluções Biociência, Jaú/SP – Brasil e composta de 15% de calorias proveniente de proteínas, 59% de gorduras e 26% de carboidratos com um total de 5,9kcal/g (Adaptado de So et al., 2011) (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição da Dieta Hiperlipídica adquirida da Prag Soluções Biociência

PRAGSOLUÇÕES		biociências ▲▼		Pedido		Cliente		Bruno Pieri		UNESC	
				Data		22/04/2015					
				Validade		21/07/2015 Em geladeira		19/10/2015 Em freezer			
				Manipulador							
				Formula		Dieta Hiperlipidica					
				Dose (g ou ml)		6.000		Vezes:		6 X	
				Dose (Kg ou L)		6,00					
Cód	Produto	Quantidade prescrita	Fonecedor	Fator correção	Lote	Validade	Quantidade prod. (g/ml)	Pesados prod. (g/ml)	Verif OK	qsp	
	AMIDO DE MILHO	14,75000%	Ingredion	1	990522	13/10/16	885,000	885,000			
	CASEINA	20,00000%	MSI	1	19130T1000	21/03/16	1.200,000	1.200,000			
	AMIDO DEXTRINIZADO	10,00000%	Ingredion	1	909110	29/02/16	600,000	600,000			
	SACAROSE	10,00000%	GA	1	0407	04/07/16	600,000	600,000			
	OLEO DE SOJA	4,00000%	Cocamar	1	81502	05/03/2016	240,000	240,000			
	CELULOSE MICROCRISTALINA	5,00000%	Farmos	1	D23279	30/07/2017	300,000	300,000			
	MIX MINERAL AIN 93 G	3,50000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	210,000	210,000			
	MIX VIT AIN 93	1,00000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	60,000	60,000			
	L CISTINA	0,3000%	Farmos	1	104604	03/04/2018	18,000	18,000			
	BITARTARATO DE COLINA	0,2500%	Farmos	1	3006290	30/07/19	15,000	15,000			
	BANHA	31,2000%	Estrela	1		18/08/15	1.872,000	1.872,000			
		100,00000%					6.000	6.000			

dilucicoes: 1/0000 em sacarose

### 3.4.1.3 Redução Calórica da Dieta

O protocolo de redução calórica da dieta foi constituído de dois processos:

1. Redução calórica e gorduras da HFD durante 5 semanas (quando associada ao treinamento essa redução foi durante 1 semana de adaptação ao treinamento e mais 4 semanas durante o protocolo de treinamento resistido) – essa dieta foi adquirida da Prag Soluções Biociência, Jaú/SP, sendo composta de 18% de proteínas, 35% de gorduras e 47% de carboidratos totalizando 4,9kcal/g (Tabela 3);
2. Mais 4 semanas de dieta padrão da Puro Trato Nutrição Animal com a mesma composição acima descrita (Tabela 1).

Tabela 3 – Composição da Redução Calórica e Gorduras da Dieta Hiperlipídica adquirida da Prag Soluções Biociência

PRAGSOLUÇÕES		biociências ▲▼		Pedido		Cliente		Bruno Pieri		UNESC	
				Data		22/04/2015					
				Validade		21/07/2015 Em geladeira		19/10/2015 Em freezer			
				Manipulador							
				Formula		Dieta Hiperlipidica Intermediaria					
				Dose (g ou ml)		3,100		Vezes:		1 X	
				Dose (Kg ou L)		3,10					
Cód	Produto	Quantidade prescrita	Fonecedor	Fator correção	Lote	Validade	Quantidade prod. (g/ml)	Pesados prod. (g/ml)	Verif OK		
	AMIDO DE MILHO	17,65000%	Ingredion	1	990522	13/10/16	547,150	547,150			
	CASEINA	20,00000%	MSI	1	19130T1000	21/03/16	620,000	620,000			
	AMIDO DEXTRINIZADO	19,50000%	Ingredion	1	909110	29/02/16	604,500	604,500			
	SACAROSE	15,50000%	GA	1	0407	04/07/16	480,500	480,500			
	OLEO DE SOJA	2,80000%	Cocamar	1	81502	05/03/2016	86,800	86,800			
	CELULOSE MICROCRISTALINA	5,00000%	Farmos	1	D23279	30/07/2017	155,000	155,000			
	MIX MINERAL AIN 93 G	3,50000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	108,500	108,500			
	MIX VIT AIN 93	1,00000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	31,000	31,000			
	L CISTINA	0,30000%	Farmos	1	104604	03/04/2018	9,300	9,300			
	BITARTARATO DE COLINA	0,25000%	Farmos	1	3006290	30/07/19	7,750	7,750			
	BANHA	14,50000%	Estrela	1		18/08/15	449,500	449,500			
		100,00000%					3,100	3,100			

diluições: 1/0000 em sacarose

### 3.5 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

Após 17 semanas do protocolo de obesidade induzida por dieta foi iniciado o protocolo de treinamento resistido concomitante às dietas com duração de 9 semanas, sendo que destas, 1 semana foi de adaptação ao treinamento. A frequência de treinamento foi de 3 ou 4 dias por semana, com intervalos de 48 horas entre as sessões de treinamento.

#### 3.5.1 Adaptação

Foi realizada uma semana de adaptação ao treinamento para reduzir o estresse dos animais ao novo ambiente e para que se familiarizassem com o tipo de treinamento. A adaptação do treinamento resistido em escada (aparato utilizado no protocolo) foi feita colocando o animal para subir no aparato (Figura 5), sem carga. A sessão era considerada satisfatória quando o animal completava a subida do início ao final da escada (Adaptado de Scheffer et al., 2012).



**Figura 6.** Imagens ilustrativas do aparato para o treinamento. Aparato para o treinamento resistido, conhecido também como escada.

### 3.5.2 Treinamento Resistido

O treinamento resistido foi realizado em escada. O aparato de 1m contém degraus com 2cm de distância entre eles e 80% de inclinação. A intensidade de esforço foi progressiva usando um peso acoplado à cauda do animal de 20% a 75% da massa corporal. As sessões de treinamento foram constituídas de volume progressivo de 3 a 5 séries com 2 minutos de intervalo entre as séries, sendo que cada série teve de 5 a 10 repetições sem intervalo (Adaptado de Hornberger e Farrar, 2004; Scheffer et al., 2012) (Figura 6).

<b>PROTOCOLO DE TREINAMENTO RESISTIDO EM ESCADA</b>				
<b>SEMANAS</b>	<b>CARGA/KG</b>	<b>SÉRIES</b>	<b>REPETIÇÕES</b>	<b>INTERVALO</b>
1	20%	3	5	2min
2	20%	3	7	2min
3	50%	4	5	2min
4	50%	4	7	2min
5	50%	4	10	2min
6	50%	4	10	2min
7	75%	5	7	2min
8	75%	5	10	2min
<b>INTERVALO DE 48HS ENTRE AS SESSÕES</b>				

**Figura 7. Protocolo de treinamento resistido.** Semanas de treino; carga por peso corporal total do animal, número de séries, repetições e tempo de intervalo entre as séries e sessões (Adaptado de Hornberger e Farrar, 2004; Scheffer et al., 2012).

### 3.6 EUTANÁSIA

Após 48 horas do último teste de tolerância à insulina foi realizada a eutanásia por decapitação. O coração e o TAB (inguinal, epididimal, perirenal, retroperitoneal e mesentérico) foram cirurgicamente removidos, lavados em salina 0,9% e secados em papel filtro. O coração foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado à -80°C para posteriores análises bioquímicas, enquanto as gorduras foram pesadas e posteriormente congeladas e uma porção do tecido adiposo inguinal foi embebida em formol 4% e destinada à histologia.



### 3.7 ANÁLISES

#### 3.7.1 Teste de Tolerância à Insulina (ITT)

O teste de tolerância à insulina (ITT) foi realizado para comprovação da instalação da resistência à insulina nos camundongos após 17 semanas do protocolo e obesidade induzida por dieta (pré-intervenção) e novamente após os protocolos de intervenção na 26<sup>a</sup> semana, sendo realizado 48 horas após a última sessão de treinamento do experimento (pós-intervenção). O protocolo consiste em deixar os animais em jejum por 6 horas e coletar uma amostra de sangue de uma pequena incisão na ponta da cauda dos animais mensurando a concentração de glicose sanguínea através de um glicosímetro para determinação da glicemia de jejum. (Ayala et al., 2010). Após é injetado intraperitonealmente uma dose de 2U/kg de insulina exógena e realizadas subsequentes mensurações da glicose sanguínea nos tempos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos (Adaptado de Wang e Liao, 2012). A primeira coleta de sangue representada pelo tempo zero do teste é a determinação da glicemia de jejum. Os dados foram calculados e demonstrados como: glicose (mg/dL); área sob a curva do ITT calculado com cruzamento dos dados de glicose (mg/dL) ao longo do tempo pós-injeção de insulina (0 à 30min), e através da taxa de decaimento da glicose plasmática (kITT %/min). (Lundbaek, 1962; Dube et al., 2013)

#### 3.7.2 Peso corporal e Índice de Adiposidade

O peso corporal total dos animais foi mensurado em gramas no início do estudo e nas semanas seguintes até o último dia do experimento para verificar se houve alteração entre os grupos. O peso mensurado no início do estudo está caracterizado nos gráficos como semana 0, durante o protocolo de obesidade induzida por dieta na 2<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup> e 17<sup>a</sup> semana e durante os protocolos de intervenção na 18<sup>a</sup>, 22<sup>a</sup> e 26<sup>a</sup> semana.

Após o período experimental e à eutanásia foi realizada a extração e pesagem do tecido adiposo branco (gordura inguinal, epididimal, perirenal, retroperitoneal e mesentérica) em uma balança analítica (0,0001g), para o cálculo do índice de adiposidade (soma das gramas de gorduras individuais/grama de peso corporal total x 100), expresso como o percentual (%) do peso corporal total.

### 3.7.3 Histologia

Para análise morfológica foram coletadas amostras de tecido adiposo inguinal que foram embebidas em solução fixadora de paraformaldeído (PFA), tamponado à 4% por 48 horas para posterior processamento (álcool em diferentes concentrações, xilol e parafina) e corte de lâminas histológicas com 4-5  $\mu\text{m}$  de espessura em micrótomo. As lâminas foram coradas em Hematoxilina e Eosina (H&E) para posterior avaliação em microscopia de luz, utilizando o sistema de captura em microscópio óptico (Nikon Eclipse Ti-U). Foi utilizado um protocolo padrão para quantificação do diâmetro do adipócito que utiliza um recurso de medida do ImageJ – National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA) (Adaptado de Thirupathi et al., 2018 e Camera et al., 2019).

### 3.7.4 Análises Bioquímicas

Para os ensaios bioquímicos as amostras foram homogeneizadas em tampão específico para cada ensaio e foram centrifugadas 8.000g durante 10min à 4°C e o sobrenadante foi estocado à -80°C.

#### 3.7.4.1 Conteúdo de Proteína

Os conteúdos de proteína foram determinados pelo método de Bradford para ponderar as análises que são dependentes dessa quantificação. Bradford contém como seu principal componente o corante Coomassie Brilliant Blue e a interação entre o corante e a proteína estabilizam a forma aniônica do corante causando uma visível mudança de coloração inicialmente castanho para tons de azul, de acordo com a concentração de proteína. A absorbância pode ser medida em um espectrofotômetro utilizando o comprimento de onda de 595nm. A comparação dos resultados com uma curva padrão de valores conhecidos permite a determinação da concentração de proteína da amostra. Os padrões para a técnica de Bradford foram obtidos pela diluição de um estoque de albumina bovina sérica (BSA), (Sigma-Aldrich cat. A2153). Para determinar a concentração de proteína (mg) de cada amostra, foi utilizado o cálculo de regressão linear (Bradford, 1976).

### 3.7.4.2 Parâmetros Inflamatórios

Para determinação do perfil inflamatório foi realizada a dosagem de citocinas por kits de imunoabsorção enzimática (ELISA).

#### 3.7.4.2.1 Citocinas

As amostras foram homogeneizadas em tampão de lise (NaCl; MgCl<sup>2</sup>; KCl; Tris 1,5 M; triton; glicerol; ortovanato; aprotinina; pirofosfato; PMSF - fluoreto de fenilmetilsulfonila). O homogeneizado foi centrifugado por 10 minutos à 4°C e 8.000g e o sobrenadante estocado à -80°C. A concentração de TNF- $\alpha$  e IL-6 foi avaliada por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) de acordo com as recomendações do fabricante (*ThermoFisher Scientific*). Foi colocado em uma placa de 96 poços 100 $\mu$ L de solução contendo anticorpo de captura (primário) anti-TNF $\alpha$  ou anti-IL-6, diluídos em tampão *Coating Buffer* (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e água deionizada). As placas foram incubadas *overnight*, na geladeira. Após sucessivas lavagens com 300  $\mu$ L de *Wash buffer* (PBS e Tween 20 0,05%), foram adicionados 200 $\mu$ L de *Assay Diluent* (PBS contendo 1% de albumina), para o bloqueio da placa e esta foi incubada por 1 hora à temperatura ambiente. As placas foram novamente lavadas e incubadas por mais 2 horas à temperatura ambiente com 100 $\mu$ L de amostras e suas respectivas curvas padrões. Após o tempo de incubação das amostras, as placas foram lavadas e incubadas com os anticorpos de detecção (secundário) anti-TNF- $\alpha$  ou anti-IL-6 durante mais 1 hora, à temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram novamente lavadas e incubadas com avidina (glicoproteína com afinidade pela biotina; conjugado de estreptavidina HRP - horseradish peroxidase), diluída 1:1000 em *Assay Diluent*, durante 30 minutos, à temperatura ambiente. As placas foram lavadas e reveladas com TMB (3,3', 5,5'- tetrametilbenzidina - solução cromógena de TM usada como substrato para HRP) *substrate solution*, incubada no escuro (fotosensível) por 15min (cor azul). A reação é interrompida por adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N (ácido sulfúrico), *stop solution* (cor amarela). A leitura da absorbância foi realizada à 450nm em espectrofotômetro e as concentrações serão calculadas por regressão de quatro parâmetros logísticos (4PL) através do site <https://www.myassays.com>. Os resultados foram expressos em pg/mg de proteína (Xiang et al., 2018).

### 3.7.4.3 Parâmetros de Estresse Oxidativo

Para os parâmetros de estresse oxidativo todos os tecidos foram homogeneizados em tampão PBS (tampão fosfato salino).

#### 3.7.4.3.1 Produção de Agente Oxidante

A oxidação de diclorodihidrofluorescína (DCFH) foi mensurada com base na oxidação da sonda 2',7'- diclorodihidrofluorescína acetato (DCFH-DA) em um composto fluorescente 2',7'- diclorodihidrofluoresceína (DCF). Uma alíquota de amostra (10ul) foi incubada com DCFH-DA (10ul) + PBS (180ul) durante 15 minutos no escuro. A DCFH-DA é desesterificada no interior das células por esterases endógenas para o ácido livre ionizado, DCFH. DCFH é oxidado em DCF pelas espécies reativas, principalmente peróxido de hidrogênio. A formação deste derivado oxidado fluorescente foi monitorada com os comprimentos de onda de excitação e emissão de 488 e 525nm, respectivamente usando um espectrofotômetro de fluorescência. A produção de espécies reativas (mais específica para  $H_2O_2$ ) foi quantificada utilizando uma curva padrão de DCF e os dados da oxidação do DCFH foram expressos como unidade de fluorescência – U/mg de proteína (Hempel et al., 1999).

#### 3.7.4.3.2 Atividade de Enzimas Antioxidantes

A enzima SOD constitui a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de radicais livres catalisando a dismutação do  $O_2^{\cdot-}$ . O produto resultante da reação catalisada pela SOD é o  $H_2O_2$ . Para análise da atividade da SOD uma alíquota das amostras foi homogeneizada em tampão glicina (0,75g em 200mL de água destilada) e centrifugada à 1000g por 10 min à 4°C. Utilizou-se 5, 10 e 15ul de amostra + 5ul de catalase, completado para 190ul de glicina à 32°C de acordo com a quantidade de amostra + 5ul de adrenalina e uma curva padrão. A atividade da SOD foi mensurada através da inibição da auto oxidação da adrenalina e lida espectrofotometricamente à 480nm. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos por unidade de SOD – U/mg de proteína. (Bannister e Calabrese, 1987).

A CAT é uma hemoproteína que catalisa a degradação do  $H_2O_2$ . Na reação, uma das moléculas de peróxido de hidrogênio é oxidada à oxigênio molecular e a outra é reduzida à água. A atividade da CAT foi determinada com base na taxa de decomposição do  $H_2O_2$  gerada pela enzima presente na amostra usando uma solução  $H_2O_2$  (40ul de peróxido + 25mL de

tampão fosfato de potássio, pH 7,0) em uma cubeta de quartzo. A taxa máxima de decomposição  $H_2O_2$  foi medida em 240nm e os valores da atividade antioxidante foram expressos por unidade de CAT – U/mg de proteína (Aebi, 1984).

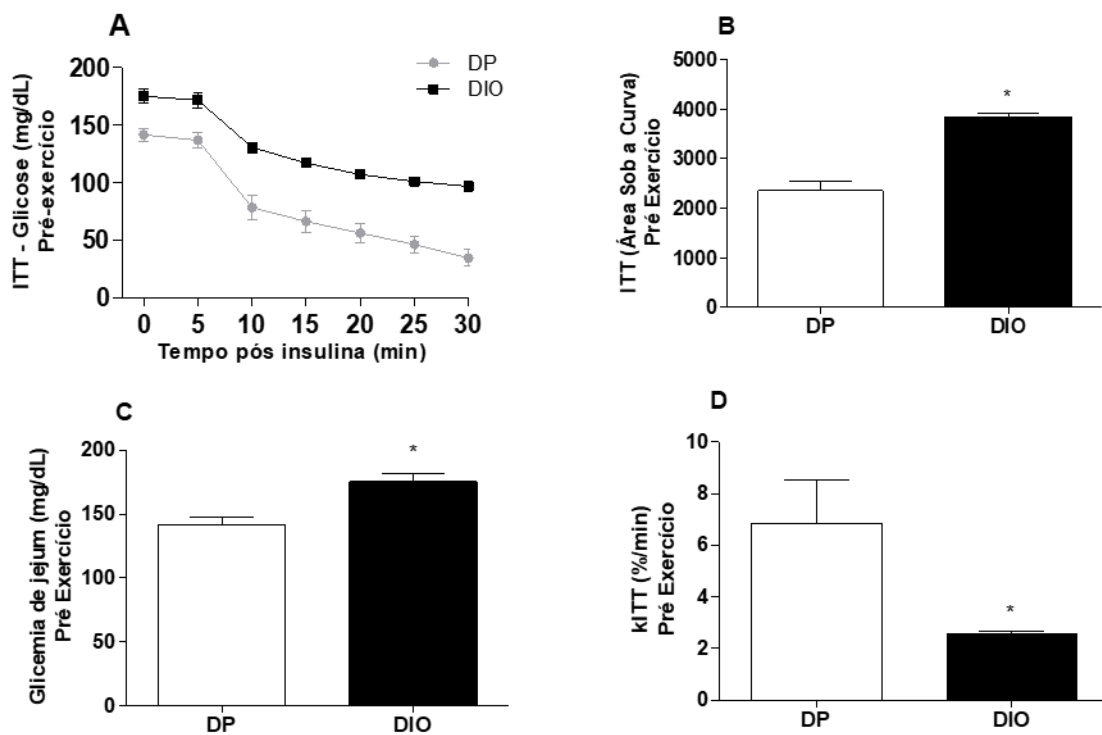
### **3.7.5 Estatística**

Para análise dos dados de ITT, AUC, kITT e glicemia de jejum pré-intervenção foi realizado o Teste t de Student para comparações entre variáveis não pareadas. Os demais dados foram calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e foram analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (*One way – ANOVA*), seguido pelo teste de *post-hoc* de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para todos os testes foi  $p < 0,05$ . Foi utilizado o Graph Pad Prisma – 5 como pacote estatístico.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA NA RESISTÊNCIA À INSULINA

O ITT foi realizado para verificar uma possível alteração na dinâmica da captação de glicose frente ao estímulo de insulina exógena na 17ª semana – fim do protocolo de obesidade induzida por dieta (pré-intervenção). O grupo DIO apresentou déficit na dinâmica da captação de glicose comparado ao grupo DP. O dado é apresentado na curva de glicose (Figura 8 A); área sob a curva do ITT (Figura 8 B); glicemia de jejum (Figura 8 C) e constante de decaimento da glicose – kITT (Figura 8 D). Os resultados demonstram alteração na captação de glicose compatível com o quadro de resistência à insulina.



**Figura 8.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta na resistência à insulina. Teste de tolerância à insulina (ITT) realizado na 17ª semana do protocolo de obesidade induzida por dieta (pré-intervenção). Curva glicêmica do ITT (A); Área sob à curva (B); Glicemia de jejum (C) e Constante de decaimento da glicose (%/min) (D). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pelo Teste t-Student para comparações entre variáveis não pareadas. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $*p < 0,05$  DIO (obesidade induzida por dieta) versus DP (dieta padrão).

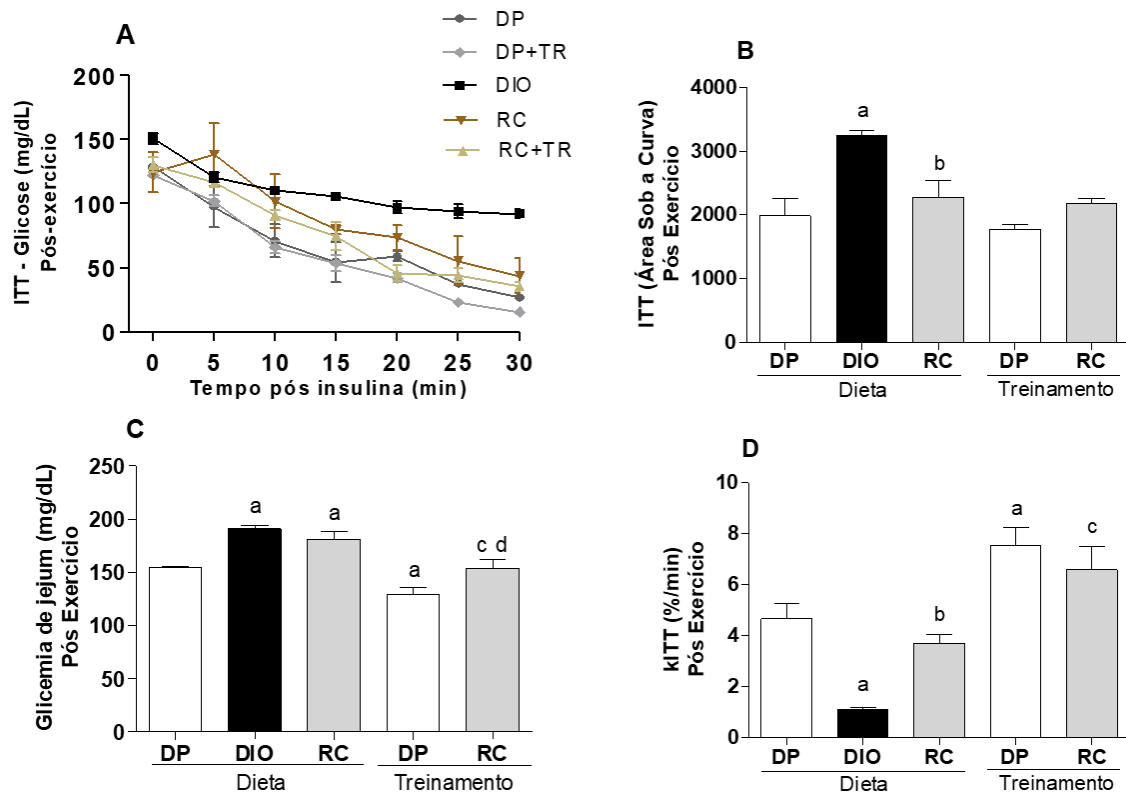
## 4.2 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NA RESISTÊNCIA À INSULINA

O ITT foi novamente realizado na 26<sup>a</sup> semana (pós-intervenção), 48h após a última sessão de treinamento, afim de verificar os efeitos da redução calórica da dieta e sua associação ao treinamento resistido na dinâmica da captação de glicose após estímulo de insulina exógena.

Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO continuou com valores aumentados de glicose no teste de ITT (tempos 15, 20, 25 e 30 min pós-insulina) (Figura 10 A), bem como uma maior área sob a curva do ITT (Figura 10 B) e apresentou glicemia de jejum também aumentada (Figura 10 C) e menor taxa de decaimento da glicose (Figura 10 D) comparado com DP, compatível com a manutenção do quadro de resistência à insulina.

Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC apresentou valores de glicose diminuídos no teste de ITT (tempos 15, 20, 25 e 30 min pós-insulina) (Figura 9 A), assim como uma menor área sob à curva (Figura 9 B) comparado ao DIO. O grupo RC não apresentou diferenças estatísticas nos valores de glicose (Figura 9 A) e área sob à curva do ITT (Figura 9 B) comparado ao DP. O grupo RC não apresentou diferença estatística na glicemia de jejum em relação ao DIO e apresentou glicemia maior comparado ao DP (Figura 9 C). O grupo RC apresentou taxa de decaimento da glicose maior comparado ao DIO, sem diferença estatística nessa taxa em relação ao DP (Figura 9 D).

Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferenças estatísticas nos valores de glicose (Figura 9 A) e área sob à curva do ITT (Figura 9 B) comparado ao DP. O grupo RC+TR apresentou diminuição significativa dos valores de glicose 20 min pós-insulina (Figura 9 A), sem diferença estatística na área sob à curva do ITT comparado ao RC (Figura 9 B). O grupo RC+TR apresentou valor de glicose do teste de ITT maior que DP+TR somente 30 min pós-insulina (Figura 9 A), sem diferença estatística na área sob à curva do ITT (Figura 9 B). Além disso, os grupos DP+TR e RC+TR foram capazes de diminuir os valores glicêmicos de jejum (Figura 9 C) e aumentar a taxa de decaimento da glicose (Figura 9 D) para além dos níveis basais de seus controles (DP e RC respectivamente). O grupo RC+TR apresentou valor glicêmico de jejum maior que DP+TR (Figura 9 C), sem diferença estatística entre esses grupos na taxa de decaimento da glicose (Figura 9 D).



**Figura 9.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido na resistência à insulina. Teste de tolerância à insulina (ITT) realizado na 26ª semana de experimento, pós-intervenção (48h pós-treinamento). Curva glicêmica do ITT (A); Área sob à curva (B); Glicemia de jejum (C) e constante de decaimento da glicose (%/min) (D). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (One Way – ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $p < 0,05$  sendo: **a** vs DP (dieta padrão); **b** vs DIO (obesidade induzida por dieta); **c** vs RC (redução calórica da dieta) e **d** DP+TR (dieta padrão+treinamento resistido) vs RC+TR (redução calórica+treinamento resistido).

#### 4.3 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NO PESO CORPORAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

O peso corporal dos animais foi mensurado durante o protocolo de obesidade induzida por dieta (pré-intervenção) na semana 0, 2, 4, 8, 12 e 17 e nas semanas 18 (prévio aos protocolos de intervenção), 22 (início da semana, durante os protocolos de intervenção) e 26 (pós-intervenção).

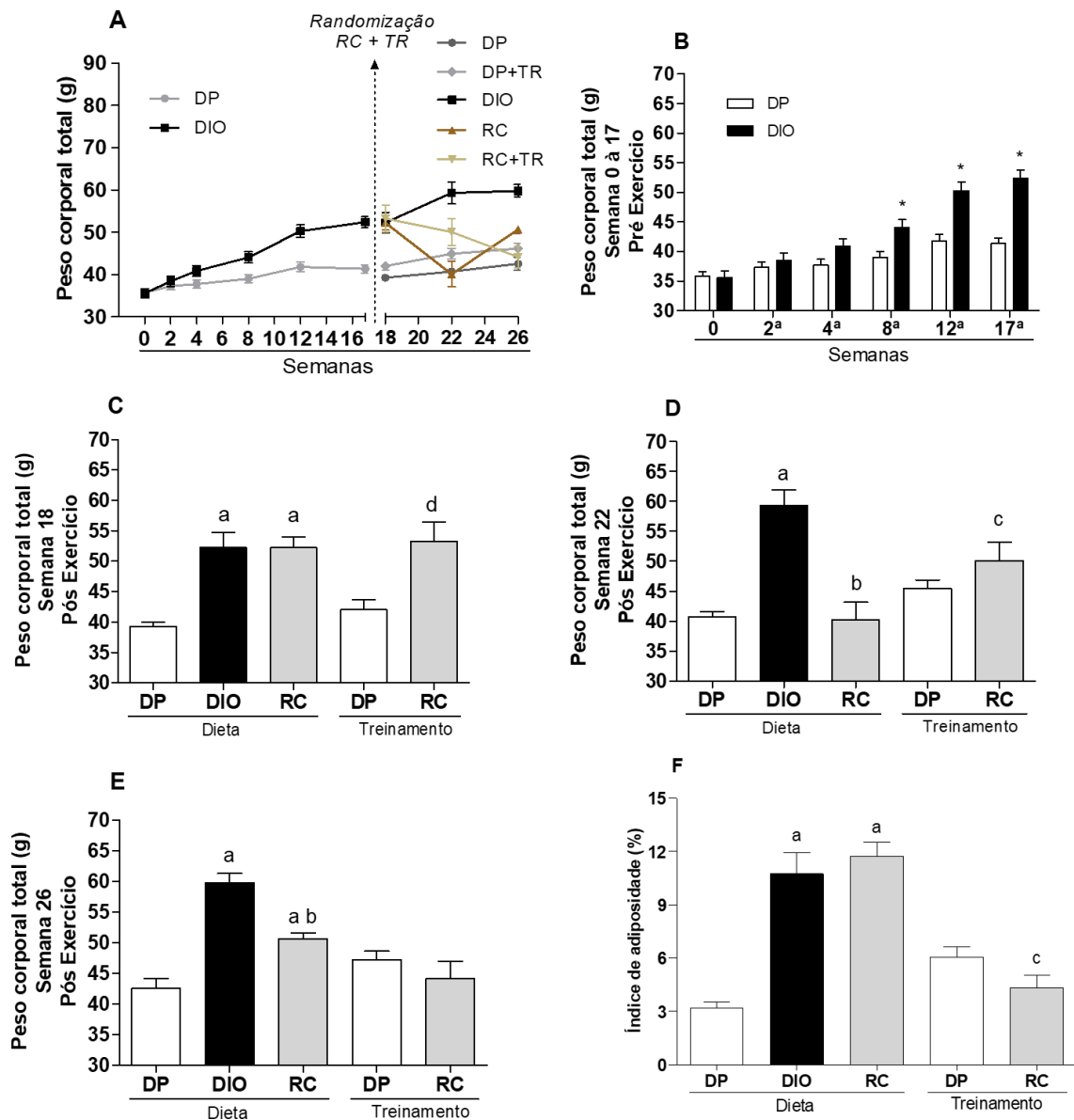
Durante o protocolo de obesidade induzida por dieta (17 semanas de dieta), o grupo DIO apresentou maior peso corporal total comparado ao DP (Figura 10 A), sendo que esse aumento começou na 8ª semana e persistiu até a 17ª semana (Figura 10 B). Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO continuou ganhando peso comparado ao DP (Figura 10 A). Esse dado



pode ser melhor demonstrado quando separado por semanas: 18ª semana (Figura 10 C), 22ª semana (Figura 10 D) e 26ª semana (Figura 10 E).

Na 18ª semana, o grupo RC não apresentou diferença estatística no peso corporal total em relação ao DIO e aumentou o peso comparado ao grupo DP (Figura 10 A e C). Na 22ª semana (Figura 10 A e D), o grupo RC diminuiu o peso corporal total em relação ao DIO e não apresentou diferença estatística no peso em relação ao DP. E na 26ª semana (Figura 10 A e E), o grupo RC diminuiu peso corporal total em relação ao DIO e aumentou o peso em relação ao DP.

Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferença estatística no peso corporal total comparado ao DP (Figura 10 A). Este dado é melhor demonstrado quando separado por semanas: 18ª semana (Figura 10 C), 22ª semana (Figura 10 D) e 26ª semana (Figura 10 E). O grupo RC+TR não apresentou diferença estatística no peso corporal total comparado ao RC na 18ª semana (Figura 10 C). O grupo RC+TR apresentou aumento do peso na 22ª semana comparado ao RC (Figura 10 D), sem diferença estatística no peso corporal total entre esses grupos na 26ª semana (Figura 10 E). O grupo RC+TR apresentou aumento do peso corporal total em relação DP+TR na 18ª semana (Figura 10 C), sem diferenças estatísticas no peso na 22ª (Figura 10 D) e 26ª semana (Figura 10 E).



**Figura 10.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido no peso corporal total e índice de adiposidade. Peso corporal total (A); Peso corporal mensurado ao longo das semanas do protocolo de obesidade induzida por dieta (pré-intervenção) – Semanas 0, 2, 4, 8, 12, 17 (B); Peso corporal mensurado ao longo dos protocolos de intervenção – Semana 18 (C); Semana 22 (D) e Semana 26 (E); Índice de adiposidade (F). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (One Way – ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $p < 0,05$  sendo: **a** vs DP (dieta padrão); **b** vs DIO (obesidade induzida por dieta); **c** vs RC (redução calórica da dieta) e **d** DP+TR (dieta padrão+treinamento resistido) vs RC+TR (redução calórica+treinamento resistido).

Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO apresentou aumento do índice de adiposidade em relação ao DP (Figura 10 F). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC não apresentou diferença estatística no índice de adiposidade em relação ao DIO e apresentou maior índice em relação ao DP (Figura 10 F).

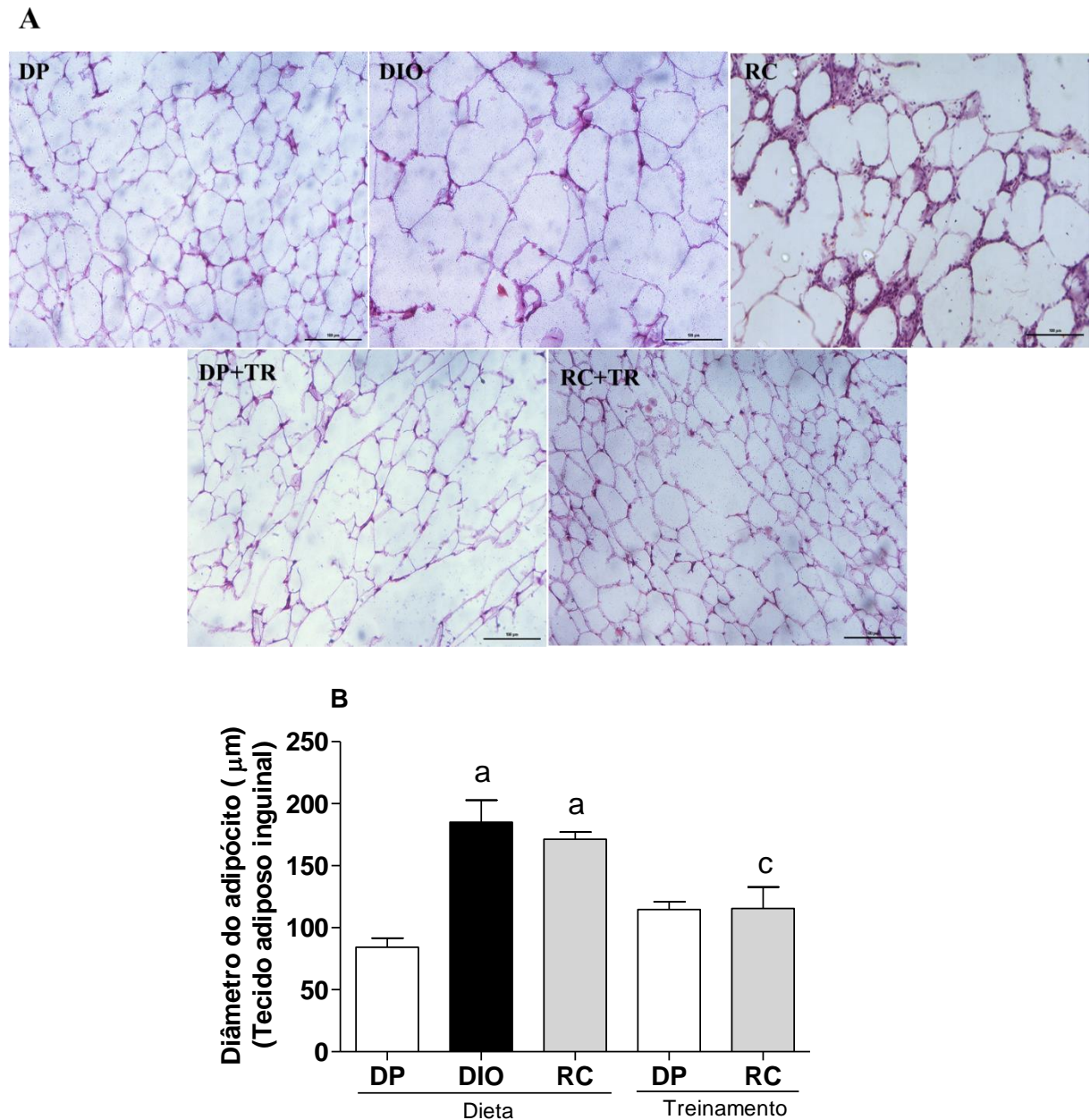
Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferença estatística no índice de adiposidade em relação ao DP (Figura 10 F) e o grupo RC+TR diminuiu esse índice comparado ao grupo RC (Figura 10 F). O grupo RC+TR não apresentou diferença estatística no índice de adiposidade comparado ao DP+TR (Figura 10 F).

#### 4.4 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO NA MORFOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO

Para quantificar as imagens histológicas do tecido adiposo branco inguinal (Figura 11 A) foi realizada a análise por estereologia do tamanho da célula (Figura 11 B).

Após 26 semanas de dieta, o grupo DP apresentou morfologia das células adiposas de aspecto normal e diâmetros normais (Figura 11 A e B). O grupo DIO apresentou células adiposas com diâmetros aumentados comparado ao DP (Figura 11 A e B). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC não apresentou diferença estatística no diâmetro do adipócito em relação ao DIO e apresentou diâmetro maior comparado ao DP (Figura 11 A e B).

Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR apresentou morfologia das células adiposas de aspecto normal e diâmetros normais compatível com DP (Figura 11 A e B). O grupo RC+TR foi capaz de reduzir o diâmetro do adipócito comparado ao RC, compatível com aspecto normal (Figura 11 A e B). O grupo RC+TR não apresentou diferença estatística no tamanho do adipócito em relação ao DP+TR (Figura 11 A e B).

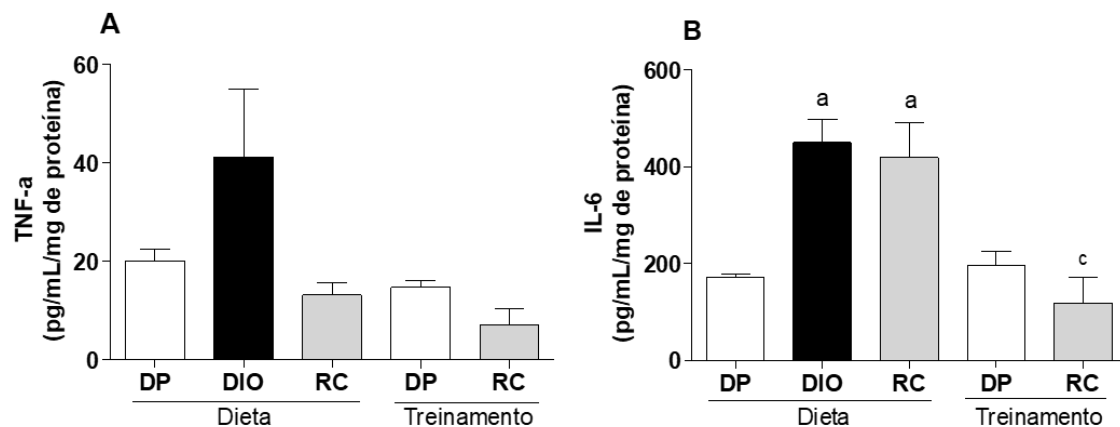


**Figura 11.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido na morfologia do tecido adiposo branco. Imagens representativas de fotomicrografias histológicas do tecido adiposo branco inguinal em microscópio óptico (n=3 – Imagens capturadas em objetiva de 20x-aumento de 200x) (A). Quantificação do diâmetro do adipócito do tecido adiposo branco inguinal em µm (B). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (One Way – ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $p < 0,05$  sendo: **a** vs DP (dieta padrão) e **c** vs RC (redução calórica da dieta).

#### 4.5 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS NO TECIDO CARDÍACO

Não houveram diferenças estatísticas em ambos os grupos no conteúdo de TNF- $\alpha$  (Figura 12 A). Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO apresentou conteúdo aumentado de IL-6 em relação ao DP (Figura 12 B). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC não apresentou diferença estatística no conteúdo de IL-6 comparado ao DIO e apresentou aumento desse conteúdo em relação ao DP (Figura 12 B).

Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferença estatística no conteúdo de IL-6 em relação ao DP (Figura 12 B) e o grupo RC+TR diminuiu esse conteúdo comparado ao RC. O grupo RC+TR não apresentou diferença estatística no conteúdo de IL-6 comparado ao DP+TR (Figura 12 B).



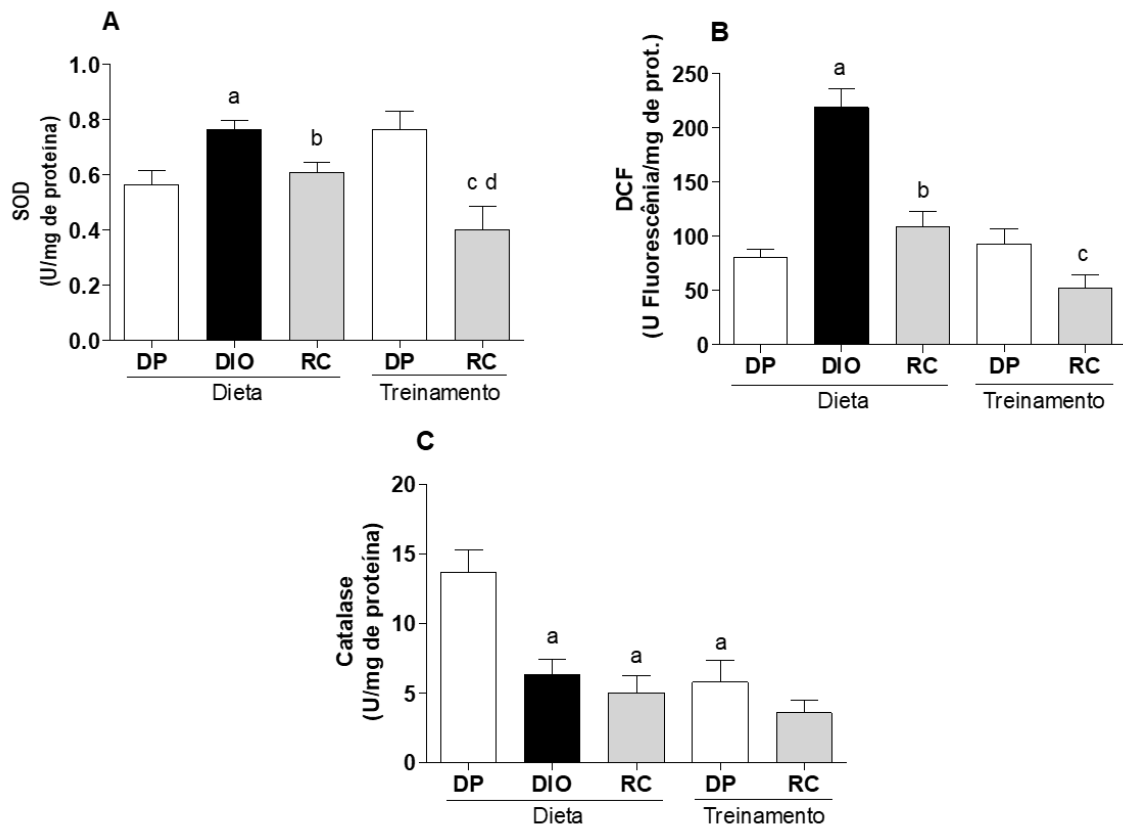
**Figura 12.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre marcadores inflamatórios no tecido cardíaco. Conteúdo de TNF- $\alpha$  no tecido cardíaco (A) e IL-6 no tecido cardíaco (B). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (One Way – ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $p < 0,05$  sendo: **a** vs DP (dieta padrão); e **c** vs RC (redução calórica da dieta).

#### 4.6 EFEITOS DO PROTOCOLO DE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA, REDUÇÃO CALÓRICA E SUA ASSOCIAÇÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO

Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO apresentou maior atividade da SOD comparado ao DP (Figura 13 A). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC apresentou menor atividade da SOD comparado ao DIO, sem diferença estatística nessa atividade em relação ao DP (Figura 13 A). Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferença estatística na atividade da SOD comparado ao DP e o grupo RC+TR apresentou uma diminuição dessa atividade comparado ao RC (Figura 13 A). O grupo RC+TR apresentou diminuição da atividade da SOD comparado ao DP+TR (Figura 13 A).

Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO apresentou aumento da oxidação do DCFH comparado ao DP (Figura 13 B). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC apresentou menor oxidação do DCFH comparado ao DIO, sem diferença estatística nessa oxidação comparado ao DP (Figura 13 B). Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR não apresentou diferença estatística na oxidação do DCFH em relação ao DP e o grupo RC+TR apresentou menor oxidação comparado ao RC (Figura 13 B). O grupo RC+TR não apresentou diferença estatística na oxidação do DCFH comparado ao DP+TR (Figura 13 B).

Após 26 semanas de dieta, o grupo DIO apresentou diminuição da atividade da CAT comparado ao DP (Figura 13 C). Após 9 semanas de redução calórica, o grupo RC não apresentou diferença estatística na atividade da CAT comparado ao DIO e diminuiu essa atividade comparado ao DP e (Figura 13 C). Após 9 semanas de treinamento concomitante à dieta, o grupo DP+TR apresentou diminuição da atividade da CAT comparado ao DP, sem diferenças estatísticas nessa atividade entre os grupos RC+TR e RC e entre DP+TR e RC+TR (Figura 13 C).



**Figura 13.** Efeitos do protocolo de obesidade induzida por dieta, redução calórica e sua associação ao treinamento resistido sobre parâmetros de estresse oxidativo no tecido cardíaco. Atividade antioxidante da superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco (A); Marcador de produção de agente oxidante através da oxidação da diclorodihidrofluorescína (DCFH) por espécies reativas no tecido cardíaco (B); e atividade da catalase (CAT) no tecido cardíaco (C). Dados calculados e expressos em média  $\pm$  erro padrão e analisados estatisticamente pela análise de variância de uma via (One Way – ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman Keuls. O nível de significância estabelecido para o teste foi  $p < 0,05$  sendo: **a** vs DP (dieta padrão); **b** vs DIO (obesidade induzida por dieta); **c** vs RC (redução calórica da dieta) e **d** DP+TR (dieta padrão+treinamento resistido) vs RC+TR (redução calórica+treinamento resistido).

## 5 DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença inflamatória crônica e tem se tornado um problema emergente de saúde pública, afetando pessoas de diferentes faixas etárias, gênero e poder econômico (Dror et al., 2017; Yamashita et al., 2018). Apesar de ser uma doença multifatorial, está relacionada principalmente com dieta e inatividade física. O excesso de nutrientes bem como a composição dos mesmos associado à falta de exercício físico contribui para aumento de doenças crônicas comórbidas à obesidade, como doenças cardiovasculares e resistência à insulina (Kirwan et al., 2017; WHO, 2018; Wedell-Neergaard et al., 2018). Os mecanismos envolvidos na instalação dessas doenças são o aumento de espécies reativas de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias (Murphy et al., 2015; Di Meo et al., 2017).

A obesidade causa alterações no TAB e acaba comprometendo diversos órgãos como o próprio tecido adiposo e o coração (Rui, 2017; Yamashita et al., 2018). Estudos tem demonstrado que dietas hiperlipídicas em roedores levam ao desenvolvimento de obesidade (So et al., 2011; Hariri e Thibault, 2010; Dror et al., 2017; Pinho et al., 2017; Effting et al., 2019). Diante disso, a redução calórica da dieta é uma condição muito realizada na prática clínica e torna-se uma estratégia hipoteticamente eficaz em reduzir os riscos relacionados à obesidade (Davis et al., 2017; González-Muniesa et al., 2017; Howell e Kones, 2017), bem como a prática de exercício físico também desenvolve um importante papel na prevenção e tratamento da doença (Touati et al., 2015; Pedersen, 2018). Ainda que muitos estudos mostrem que o exercício aeróbico seja mais eficaz no tratamento da obesidade (Oh et al., 2016; Villareal et al., 2017; Pedersen, 2018; Cabral-Santos et al., 2018), o exercício de resistência vem ganhando espaço no meio acadêmico (Mardare et al., 2016; Di Meo et al., 2017; González-Muniesa et al., 2017; Hong et al., 2017; Fiuza-Luces, et al., 2018 ;Miller et al., 2018), porém ainda existem poucos dados em relação à redução calórica da dieta associada ao treinamento resistido.

No presente trabalho, camundongos Swiss foram alimentados por 17 semanas com dieta padrão e dieta hiperlipídica visando desenvolver um quadro de obesidade induzida por dieta (Howell e Kones, 2017). Após o protocolo de obesidade induzida por dieta os animais foram submetidos aos protocolos de intervenção terapêutica com redução calórica da dieta durante 9 semanas, associada ou não treinamento resistido. O protocolo de obesidade induzida por dieta e redução calórica não induz à deficiência de micronutrientes possuindo diferentes fontes nutricionais, porém enfatizando o papel do consumo excessivo de calorias e gorduras saturadas no desenvolvimento da obesidade e da resistência à insulina (So et al., 2011).



A WHO (2018) recomenda a ingestão máxima de 10% de ácidos graxos saturados para manutenção do peso, assim como algumas diretrizes também mantém essa correlação (Wang e Hu, 2017). Perona (2017) e O'Connor e Rudkowska (2019) citam que dietas com menos gorduras são eficazes para perda de peso por serem também menos calóricas e por diminuírem a inflamação, sendo que algumas instituições recomendam a ingestão limite de 5-7% de ácidos graxos saturados para prevenir doenças cardiovasculares. Além disso, dietas com menor fonte de gordura e mais carboidrato parecem eficientes em melhorar o metabolismo da glicose, porém, alguns indivíduos são suscetíveis à hiperglicemia e hiperinsulinemia (Gow et al., 2016; O'Connor e Rudkowska, 2019).

Embora haja controvérsias na área acadêmica, uma vasta gama de estudos associa o consumo de gordura saturada como prejudicial à saúde (Emelyanova et al., 2019) e sugerem redução do consumo de gorduras totais, uma vez que o excesso de ácidos graxos parece aumentar o risco de desenvolver doenças, prejudicando o metabolismo da glicose, e a sensibilidade à insulina, bem como aumento de peso, estresse oxidativo e inflamação em vários órgãos e tecidos. (Perona, 2017; Wang e Hu, 2017). O aumento de AGL na corrente sanguínea acarreta na disfunção do metabolismo dos lipídeos comprometendo a via de sinalização da insulina e pode levar a ativação do receptor TLR4. Esse receptor de reconhecimento padrão inicia uma cascata inflamatória pela ativação do NFκB (Goh et al., 2016; Palomer et al., 2018). Portanto, as gorduras de fonte animal são incidentes de doenças, sendo os ácidos graxos de cadeia longa como o ácido palmítico associados com esse risco (Wang et al., 2017).

Os efeitos dos ácidos graxos saturados sobre o LDL sanguíneo, glicose e insulina dependem também da comparação com outros nutrientes, por isso, os carboidratos também devem ser levados em consideração quando se fala da composição dos mesmos. Willett et al. (2019) apontam que o consumo de açúcar não deve ultrapassar 5% do consumo energético total diário. O protocolo de obesidade induzida por dieta do presente estudo possuía porcentagem menor de carboidrato comparado à quantidade de gordura, porém essa composição era de carboidrato refinado, amido e sacarose, fontes que aumentam muito o índice glicêmico e o peso e estão associados com o quadro de síndrome metabólica (Wang e Hu, 2017).

Com base nesses pressupostos, afim de desenvolver um quadro de obesidade com ganho de peso e resistência à insulina, o protocolo de obesidade induzida por dieta do presente estudo foi baseado no trabalho de Wang e Liao (2012), que descreve que camundongos levam de 16 a 20 semanas para desenvolverem obesidade induzida por dieta, sendo o tempo necessário para causar alterações nos órgãos e sistemas. No presente estudo, os animais que receberam dieta hiperlipídica aumentaram o peso e a resistência à insulina quando comparados ao controle.

Esse aumento de peso iniciou na 8ª semana e se manteve até o fim do experimento, bem como as alterações na captação de glicose frente ao estímulo de insulina exógena também perduraram desde o primeiro teste de ITT até o teste final. Esses resultados são idênticos no estudo de Effting et al. (2019), e corroboram com o estudo de Townsend et al. (2008) onde camundongos C57BL/6 apresentaram maior ganho de peso e aumento nos níveis de glicose e insulina, sugerindo resistência à insulina quando alimentados com uma dieta com 60% de gordura comparado ao grupo alimentado com apenas 10% de gordura em 15 semanas de dieta. White et al. (2013) também demonstraram resultados semelhantes em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, com aumento de peso e resistência à insulina em 10 semanas de experimento. Mais recentemente, semelhanças foram encontradas no estudo de Sokolova et al. (2019), onde camundongos alimentados com dieta hiperlipídica durante 52 semanas começaram a ganhar peso a partir da 9ª semana, marcando o início da obesidade.

Com esse quadro instalado os animais foram expostos o protocolo de redução calórica associada ou não ao treinamento resistido. A redução calórica foi capaz de diminuir os valores de glicose e apresentar menor área sob a curva no teste de ITT quando comparado ao grupo obesidade induzida por dieta, bem como aumento da taxa de decaimento de glicose. Além disso, os resultados sugerem que a redução calórica foi capaz de diminuir esses valores a condições basais mesmo sem a capacidade de diminuir a glicemia de jejum, o que sugere que a tal resposta modula parcialmente o quadro de resistência à insulina.

O excesso de ácidos graxos livres na corrente sanguínea pode se acumular em órgãos e tecidos gerando gordura ectópica (Alomar et al., 2015; Pedersen, 2018), causando alterações no metabolismo, como disfunção celular pela lipotoxicidade, bem como a morte programada de células. A lipotoxicidade e a produção de ceramidas inibem a ativação da Akt, inibindo assim a ação da insulina (Kirwan et al., 2017; Palomer et al., 2018), por isso a redução de gordura da dieta pode ter sido eficaz em reestabelecer a sensibilidade à insulina, aumentando a captação de glicose pelos órgãos e tecidos. Entretanto, a glicemia de jejum elevada, pode ser prejudicial se mantida por longos períodos de tempo, pois precede o estágio pre-diabético (Weir e Bonner-Weir, 2004). No presente estudo, sugere-se que esse aumento pode ser advindo ainda dos efeitos da dieta hiperlipídica ou pelo aumento do consumo de carboidrato durante a redução calórica.

No estudo de Cocks et al. (2014) 6 semanas de treinamento resistido em humanos melhorou o índice de sensibilidade à insulina em homens sedentários. Yaspelkis et al. (2002) também demonstraram que 12 semanas de treino resistido (3 séries de 10 repetições) em ratos melhorou a captação de glicose, assim como resultados semelhantes foram encontrados no

trabalho de Krisan et al. (2004). Krisan e colaboradores (2004) demonstraram que não só ratos que consumiram dieta padrão, bem como também os alimentados com dieta hiperlipídica por 9 semanas (idêntica a composição do presente estudo), expostos ao treinamento resistido por 12 semanas melhoraram a captação de glicose, entretanto, o protocolo de treinamento nos estudos de Yaspelkis et al. (2002) e Krisan et al. (2004) são diferentes do realizado no presente estudo.

O treinamento resistido concomitante às dietas no presente estudo, foi capaz de diminuir os valores glicêmicos de jejum e aumentar a taxa de decaimento da glicose em relação aos seus respectivos controles, sugerindo que o treinamento parece ter papel importante no metabolismo da glicose. O grupo redução calórica associado ao treinamento resistido apresentou valor glicêmico de jejum maior quando comparado ao basal, sem diferença estatística na taxa de decaimento da glicose, sugerindo que a condição dietética pode continuar comprometendo a glicemia de jejum mesmo quando associada ao treinamento resistido. É importante destacar, que apesar dos resultados não demonstrarem alterações em todos os indicadores analisados sob os mecanismos de captação da glicose, o treinamento resistido concomitantes às dietas não apenas levou valores de glicemia de jejum e taxa de decaimento de glicose à valores basais, como ainda foi capaz melhorar esses índices frente aos controles. Esses resultados são semelhantes ao estudo de Botezelli et al. (2016) onde o treinamento de força foi capaz de controlar a resistência à insulina, retornando à sensibilidade à valores normais, mesmo quando os animais foram alimentados com frutose.

Estudos também tem demonstrado que o treinamento resistido pode reduzir a gordura corporal preservando a massa magra em obesos (Miller et al., 2018), sendo que a massa muscular tem sido associada com maior sensibilidade à insulina (Shehab e Abd, 2011), o que pode ter contribuído para melhora na captação de glicose pelo treinamento resistido no presente estudo. O estudo de Di Meo et al. (2017) demonstra ainda que o exercício resistido é capaz de diminuir a porcentagem de hemoglobina glicosilada e melhorar os perfis metabólicos diminuindo o risco de doença cardiovascular em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

O excesso de nutrientes leva ao aumento de peso corporal e é um dos principais fatores relacionados à resistência à insulina, alterações inflamatórias e estresse oxidativo (Di Meo et al., 2017). Dessa forma, no presente estudo o peso corporal total dos animais foi mensurado na semana 18 (antes do início dos protocolos de intervenção), na 22ª e 26ª semana de experimento. Na 18ª semana, o grupo redução calórica apresentou aumento do peso corporal quando comparado ao grupo ao grupo dieta padrão e não demonstrou diferença estatística no peso corporal total em relação ao grupo obesidade induzida por dieta, possivelmente pelo fato da troca de dieta iniciar após essa mensuração. Já na 22ª semana, o grupo redução calórica

diminuiu o peso corporal total em relação ao grupo obesidade induzida por dieta, sem diferença estatística em relação ao grupo dieta padrão, sugerindo que a redução calórica diminuiu o peso corporal a nível normal. Entretanto, na 26ª semana, embora o grupo redução calórica continuou diminuindo peso em relação ao grupo obesidade induzida por dieta, acabou aumentando o peso em relação ao grupo dieta padrão. Esse aumento em relação ao padrão pode ser devido ao fato dos animais aumentarem o consumo de carboidrato, uma vez que essa composição da dieta pode também refletir nesse parâmetro (Wang e Hu, 2017), mesmo sendo capaz de melhorar em relação ao consumo aumentado de gordura (Perona, 2017; O'Connor e Rudkowska, 2019).

Lijnen et al. (2012) demonstraram que camundongos alimentados com HFD (42% kcal de gordura saturada mais 42,7% de carboidrato) durante 50 semanas, continuaram aumentando o peso enquanto os animais expostos à diminuição de gordura (13%) e carboidrato (44%) por mais 6 semanas diminuíram drasticamente o peso corporal. A diferença entre o presente estudo e o estudo de Lijnen (2012) e colaboradores é que para induzir a obesidade, o protocolo do presente estudo possuía mais gordura que carboidrato, porém a quantidade de carboidrato aumentava nas semanas de redução calórica (mesmo que as calorias da dieta ficassem menores) à medida que diminuía o percentual de gordura da dieta, além disso, o tempo de redução calórica foi maior, o que pode ter também contribuído para o aumento de peso frente ao consumo de maiores quantidades de carboidrato. Além disso, embora os mecanismos ainda sejam incertos, alguns estudos demonstram também que a perda de peso por conta de dietas pode ser prejudicial por conta do “reganho” de peso, devido à diminuição da taxa metabólica basal, processo conhecido como termogênese adaptativa (Tseng et al., 2010; Howell e Kones, 2017; Dayan, 2019).

Kwon et al. (2010) ao avaliarem mulheres com sobrepeso e diabetes mellitus tipo 2 demonstram que o treinamento resistido foi capaz de melhorar o ganho de peso comparado ao grupo controle. Ao analisar os efeitos do treinamento concomitante à dieta do presente estudo é possível verificar que o grupo redução calórica associado ao treinamento resistido apresentou aumento do peso comparado ao seu controle na 22ª semana, sem diferença estatística nas demais semanas. Esse aumento do peso pode estar relacionado com o ganho de massa muscular, uma vez que esse tipo de treinamento induz alterações nas fibras musculares causando aumento na densidade muscular ou hipertrofia, (Heo et al., 2018), contudo, o treinamento também pode ter induzido a perda de gordura pelo aumento da atividade mitocondrial, modificando o peso corporal total, estabilizando essa diferença nas semanas seguintes.

Corroborando com nossos resultados, recentemente Lee et al. (2018) demonstraram que o modelo animal de treinamento resistido de escalada pode melhorar o perfil mitocondrial

e desenvolve hipertrofia do músculo esquelético. Leite et al. (2013) demonstraram que 12 semanas de exercício de escalada aumenta a massa magra e diminuiu o percentual de gordura em animais. De acordo com Di Meo et al. (2017) o exercício resistido também aumenta a força muscular e o número fibras rápidas além de reduzir a gordura abdominal.

O grupo redução calórica associado ao treinamento resistido comparado ao grupo dieta padrão associado ao treinamento apresentou um aumento do peso corporal somente na 18ª semana, sendo justificado pelo fato da mensuração do peso ter sido antes da troca de dieta, sem diferenças estatísticas na 22ª e 26ª. Portanto, esses resultados sugerem que o protocolo de redução calórica associada ao treinamento resistido pode ser capaz de impedir a continuidade de ganho de peso corporal e parece ser um importante aliado mesmo em uma situação onde não há controle de ingesta. Tais efeitos podem estar relacionados ao aumento do gasto energético pelo exercício e aumento de massa muscular, corroborando com o aumento da sensibilidade à insulina.

A inflamação crônica de baixo grau é decorrente de alterações no tecido adiposo (Batatinha et al., 2019). O tecido adiposo branco, é importante por regular a homeostase entre o acúmulo e oxidação de gordura, porém, também pode induzir respostas inflamatórias pela secreção de adipocinas, citocinas e quimiocinas, recrutando células imunes, especialmente macrófagos para o local inflamado, propagando a inflamação (Brestoff e Artis, 2015; Kang et al., 2016; Batatinha et al., 2019). A infiltração exacerbada de macrófagos M1 no tecido adiposo visceral está relacionada com o aumento de LDL e o remodelamento cardíaco (Alí et al., 2019), dessa forma, inflamação e resistência à insulina estão relacionadas com doenças cardiovasculares ateroscleróticas provocando inflamação vascular (Reilly, 2007).

Estudos demonstram que a distribuição de gordura corporal também é um fator de risco, uma vez que a gordura abdominal estimula fatores oxidantes estando relacionada à quantidade de gordura epicárdica e ao aumento da resistência à insulina (Golbidi e Laher, 2012; Manna e Jain, 2015). Klötting et al. (2010) fizeram a comparação entre indivíduos obesos com a mesma circunferência abdominal, porém um grupo com acúmulo de gordura subcutânea, e o outro de gordura visceral e demonstraram que os primeiros, embora obesos, são sensíveis à insulina, enquanto os indivíduos do segundo grupo são resistentes à ação do hormônio.

O excesso de nutrientes e a composição dos mesmos desencadeia o aumento de peso pelo acúmulo de gordura, modificando a morfologia do tecido adiposo. Além das alterações na captação de glicose e aumento de peso corporal total, a dieta hiperlipídica no presente estudo foi capaz de alterar também o perfil do tecido adiposo branco, com aumento do índice de adiposidade e diâmetro do adipócito. Esses dados corroboram com o estudo de

Annamalai et al. (2017), onde ratos alimentados com HFD apresentam aumento do tamanho das células adiposas. Lepore et al. (2019) também demonstram que animais alimentados com dieta hiperlipídica tiveram aumento do diâmetro do adipócito comparado à animais com dieta normocalórica, bem como White et al. (2013), também comprovaram que dieta hiperlipídica durante 10 semanas causa aumento do índice de adiposidade.

Quando os animais são expostos à redução calórica também apresentaram o índice de adiposidade e o diâmetro do adipócito maior em relação ao grupo dieta padrão, sem diferença estatística em relação ao grupo obesidade induzida por dieta, sugerindo que a redução calórica por si não foi eficaz em reduzir o índice de adiposidade nesse período de tempo e nessa condição dietética. Lijnen et al. (2012) demonstraram que a restrição calórica foi capaz de diminuir o tamanho do adipócito, porém, no presente estudo, apesar do grupo redução calórica apresentar visualmente na imagem microscópica células adiposas com diâmetros aparentemente menores em comparação ao grupo obesidade induzida por dieta, estatisticamente o grupo não apresentou diferença no diâmetro. Esses dados sugerem que talvez seja necessário um período maior de redução calórica baseado em diminuição de gordura (Perona, 2017; O'Connor e Rudkowska, 2019), sem muito aumento de carboidrato (Wang e Hu, 2017), uma vez que esses dados corroboram com os dados de peso corporal total e índice de adiposidade.

É importante destacar que o índice de adiposidade no presente estudo foi baseado no peso das gorduras do tecido adiposo branco. O grupo redução calórica associado ao treinamento resistido promoveu diminuição do índice de adiposidade, inclusive trazendo os valores para índices de controle. Resultados semelhantes são encontrados no estudo de Souza et al. (2014), onde avaliaram o percentual de gordura de todo o corpo de ratos submetidos à dieta hiperlipídica por 13 semanas, e posteriormente treinados com exercício resistido, demonstrando que os animais obesos submetidos ao treinamento apresentaram perda do percentual de gordura em relação ao grupo obeso sedentário. Esses dados sugerem que a associação entre dieta e exercício parece ser eficaz em diminuir o índice de adiposidade do tecido adiposo branco, sendo importante sob condições patológicas, mesmo que o treinamento resistido não tenha efeitos sob condições padrões, “saudáveis”.

A disfunção do tecido adiposo está diretamente relacionada com o acúmulo de gordura visceral e a hipertrofia do adipócito, sendo o tamanho mais predisposto ao desenvolvimento de doenças do que o aumento do número de células (hiperplasia) (Klötting et al. (2010), isso porque, o número é constante em sujeitos magros e obesos, uma vez que a quantidade de células não é alterada na vida adulta, sendo definida já na infância (Spalding et al., 2008; Choe et al., 2016). O aumento do diâmetro do adipócito está relacionado com o

aumento da hipóxia tecidual e consequente aumento da permeabilidade endotelial e recrutamento de macrófagos M1, bem como aumento da fibrose ao redor do tecido adiposo causando disfunção do adipócito e morte celular (Engin, 2017).

O grupo treinamento resistido concomitante às dietas apresentou morfologia das células adiposas de aspecto normal e diâmetros normais compatíveis à morfologia padrão comparado à redução calórica sozinha, sendo então capaz de reduzir o tamanho do adipócito à tamanhos normais. Esses efeitos provavelmente estão relacionados com a redução de peso e índice de adiposidade, causadas pelo possível aumento da função mitocondrial, aumentando também a oxidação de ácidos graxos e consequente aumento do fluxo sanguíneo, o que pode diminuir a hipóxia tecidual (Vieira et al., 2009), além de um possível aumento da massa muscular e melhora da sensibilidade à insulina (Shehab e Abd, 2011; Leite et al., 2013; Lee et al., 2018), melhorando assim a morfologia do tecido adiposo.

Lehning et al. (2019) demonstram que o exercício pode levar a alterações no tecido adiposo branco com consequente diminuição do tamanho do adipócito. Em humanos, o diâmetro do adipócito de mulheres obesas submetidas à 6 semanas de treinamento foi diminuído quando comparado com mulheres que só realizaram redução calórica (Thompson et al., 2012; You et al., 2004), além disso, ratos alimentados com dieta hiperlipídica e treinados durante 4 semanas, também tiveram diminuição do diâmetro do adipócito, embora com exercício aeróbio (Gollisch et al., 2009). A diminuição do diâmetro do adipócito pelo treinamento resistido pode ter contribuído para aumentar a sensibilidade à insulina e possivelmente melhorar os parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo no tecido cardíaco.

As alterações no tecido adiposo causadas pelo excesso de nutrientes e/ou consumo excessivo de gorduras saturadas desencadeia o processo inflamatório crônico na obesidade relacionado com a produção de citocinas pró-inflamatórias e maior propensão a disfunções cardiovasculares (Souza et al., 2014). O TNF- $\alpha$  e a IL-6 são citocinas envolvidas nas alterações metabólicas decorrentes da obesidade incluindo inibição da via de sinalização da insulina (Thomas et al., 2015; Di Meo et al., 2017).

Estudos apontam que concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- $\alpha$  também estão relacionadas com o risco de infarto do miocárdio em modelos animais e humanos (Reilly, 2007; Mathur e Pedersen e Febbraio, 2008) e que comprometem a função endotelial (Lovren et al., 2015). Embora não foram observadas diferenças estatísticas em ambos os grupos no conteúdo de TNF- $\alpha$  (Kang et al., 2016; Tang et al., 2016; Kirwan et al., 2017; Meo et al., 2017; Pedersen, 2018; Palomer et al., 2018), o grupo obesidade induzida por dieta apresentou conteúdo aumentado de IL-6 em relação ao grupo dieta padrão. Esse resultado é semelhante em estudo

prévio em que Botezelli e colaboradores (2016), demonstraram que animais alimentados com frutose apresentam estado inflamatório com maior concentração sérica de IL-6.

O grupo redução calórica apresentou aumento no conteúdo de IL-6 em relação à dieta padrão, sem diferença estatística em relação ao grupo obesidade induzida por dieta, sugerindo que a redução calórica por si não foi capaz de diminuir a inflamação mediada por IL-6. Lijnen et al. (2012) demonstram que animais com diminuição de gordura saturada de 42 para 13% diminuíram a expressão gênica de IL-6 no tecido adiposo, embora não tenha alterado a expressão de TNF- $\alpha$ , contudo a quantidade de carboidrato durante a redução calórica foi maior no presente estudo.

Embora estudos apontem que ácido palmítico induz dano ao miocárdio (Alí et al., 2019), outros estudos, de corte, demonstram que dietas ricas em gordura não aumentam o risco de doenças cardiovasculares, mas também sugerem que carboidratos não sejam substituídos por gordura quando consumidos de forma reduzida, e que a diminuição da quantidade de gordura não deve ser acompanhada de aumento de carboidratos refinados e açúcar (Wang e Hu, 2017), o que pode explicar a não diminuição do conteúdo de IL-6 pela redução calórica no presente estudo. Além disso, a modificação do tecido avaliado pode influenciar nas divergências de resultados, porém, esses dados corroboram com os resultados relacionados ao tecido adiposo do presente estudo, o que pode ter contribuído para produção aumentada dessa interleucina no coração. De acordo com Bao et al. (2015), níveis elevados de IL-6 circulantes estão intimamente relacionados com a resistência à insulina e diabetes e segundo Kim et al. (2015) esses níveis são positivamente associados ao percentual de massa gorda, o que mais uma vez corrobora com os dados de glicemia de jejum, peso corporal e índice de adiposidade do presente estudo apresentados pelo grupo redução calórica.

Recentemente, os efeitos anti-inflamatórios do exercício vêm sendo estudados (Tateya et al., 2013; Pedersen, 2018). No presente estudo, o grupo redução calórica associado ao treinamento resistido diminuiu o conteúdo de IL-6 quando comparado à redução calórica por si, demonstrando que o treinamento resistido se torna uma intervenção eficaz em reduzir inflamação crônica nessa condição, bem como essa associação foi capaz de causar alterações benéficas no quadro inflamatório por levar esse conteúdo a condições basais. No estudo de Tang et al. (2016) ratos alimentados com dieta hiperlipídica e treinados por 8 semanas em escada, apresentaram concentrações de IL-6 menores. Alguns estudos têm demonstrado a relação desse efeito com a massa muscular e melhora da sensibilidade à insulina (Salles et al., 2010), o que corrobora com os demais resultados apresentados por esse grupo, no entanto, os benefícios do exercício também parecem estar associados ao fato de que o treinamento é capaz de promover



a produção de citocinas anti-inflamatórias, para além do aumento de massa e força muscular, bem como aumento do gasto energético.

Os efeitos anti-inflamatórios do exercício, estão fortemente relacionados com o aumento de IL-6 produzida pela contração muscular e exerce papel paradoxo ao tecido adiposo (Pedersen, 2018). Dentre esses efeitos, a IL-6 muscular promove o aumento de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-1ra, que inibem respectivamente a produção de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , citocinas chaves no processo inflamatório (Oh et al., 2016; Pedersen, 2018; Cabral-Santos et al., 2018). Por isso, é importante ressaltar que conteúdos elevados, crônicos de IL-6 tem efeitos pró-inflamatórios e são prejudiciais ao metabolismo, enquanto a IL-6 produzida pelo músculo esquelético e liberada rapidamente na corrente sanguínea após exercício exerce efeito anti-inflamatório (Pedersen e Febbraio, 2012). Além disso, essa produção de IL-6 muscular e seus efeitos está relacionada com vários fatores, como intensidade do exercício, duração, massa muscular envolvida e glicogênio muscular (Pedersen e Febbraio, 2008; Pedersen, 2018).

Estudos apontam também que o exercício físico provavelmente suprime o TNF- $\alpha$  via independente da IL-6, uma vez que há uma diminuição do TNF- $\alpha$  após exercício em camundongos knock-out de IL-6 (Pedersen e Febbraio, 2008 e 2012). Uma hipótese é que o exercício induz à altos níveis de epinefrina e que apesar do mecanismo não estar claro, a infusão de epinefrina atenua o aparecimento de TNF- $\alpha$ , induzindo somente pequeno aumento na IL-6 (Pedersen e Febbraio, 2008; Pedersen, 2018).

Prévios estudos têm demonstrado que a depleção de IL-6 pode induzir à danos cardíacos, porém, elevados conteúdos de IL-6 também estão correlacionados ao dano, sugerindo que concentrações fisiológicas são importantes (Lee et al., 2017). Esses dados e parâmetros inflamatórios em conjunto demonstram que a inflamação no tecido cardíaco parece ser dependente de IL-6 crônica no modelo experimental do presente estudo.

A inflamação no tecido adiposo pode levar ao quadro de estresse oxidativo (Manna e Jain, 2015), onde TNF- $\alpha$  e IL-6 são citocinas estimuladoras para a produção ERO (Fernández-Sánchez et al., 2011), aumentando a atividade da NADPH oxidase e a produção de ânion superóxido (Espinosa et al., 2016). Além disso, a sobrecarga lipídica acelera o fluxo metabólico, acelerando o ciclo do ácido tricarbóxico e levando à superprodução de NADH e FADH<sub>2</sub>, causando aumento exacerbado dessas coenzimas e maior extravasamento de elétrons na cadeia respiratória, resultando no aumento da produção de superóxido. O excesso de nutrientes causa disfunção mitocondrial diminuindo a oxidação de ácidos graxos e levando ao acúmulo de acil-CoA e DAG, o que compromete a via de sinalização da insulina pelo aumento na produção de

oxidantes, principalmente pela produção de peróxido de hidrogênio ativando NFkB e outras quinases (JNK, PKC, MAPK) (Glass e Olefsky, 2012; Di Meo et al., 2017).

Assim sendo, a obesidade pode levar a alterações redox em vários órgãos e tecidos, incluindo o coração. A esteatose miocárdica tem sido utilizada como biomarcador de lipotoxicidade cardíaca em humanos, bem como o acúmulo de lipídios no coração está associado à disfunção cardíaca em humanos e roedores com obesidade induzida por dieta (Wende et al., 2012). No estudo de Balteau et al., (2011) cardiomiócitos cultivados a alta exposição de glicose também ativam NOX2 e prejudicam a sinalização de insulina, dado revertido quando usado um inibidor da ativação de NOX2.

Evidências demonstram que a deficiência no sistema antioxidante torna o coração vulnerável à lesão de isquemia-reperfusão em modelos animais (Barbosa et al., 2012). Portanto, o estresse oxidativo tem sido clinicamente relacionado à alterações no tecido cardíaco e progressão de doenças cardíacas (Pignatelli et al., 2018; Camera et al., 2019). O desequilíbrio entre as defesas antioxidantes endógenas e a produção de agentes oxidantes levam ao quadro de estresse oxidativo, o que pode causar danos à macromoléculas desenvolvendo condições patológicas (Hurrle e Hsu, 2017; Usman e Volpi, 2018).

A primeira linha de defesa antioxidante em sistemas biológicos é a superóxido dismutase, enzima que dismuta o ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, sendo de extrema importância para o organismo (Shadel e Horvath, 2015; Brand, 2016). A produção contínua e/ou em excesso de ERO durante os processos metabólicos leva à modulação dos mecanismos de defesa endógenos (Halliwell, 2011).

No presente estudo, o grupo obesidade induzida por dieta apresentou maior atividade da superóxido dismutase. Geralmente, estudos apontam que a atividade da SOD, por ser uma enzima antioxidante e importante em sistemas redox, esteja diminuída em animais alimentados com dieta hiperlipídica (Balbaa et al., 2017; Annamalai et al., 2017 ;Abdelsadik, 2018), porém, o suposto aumento da produção de agentes oxidantes nesse grupo, por conta da dieta, pode ter feito com que o sistema tenha elevado a atividade da SOD para poder manter o estado redox. Isso é possível uma vez que o acúmulo de AGL na corrente sanguínea aumentam a produção de oxidantes mitocondriais. (Di Meo et al., 2017). Corroborando com essa hipótese, Souto et al. (2015) observaram que dieta hiperlipídica aumenta a produção de superóxido nas fibras musculares esqueléticas de camundongos, e além disso, a atividade elevada da SOD também foi relatada em tecido cardíaco de ratos obesos induzidos por dieta nos estudos de Ansari et al. (2012) e Farhangi et al. (2017). O mesmo resultado foi encontrado em camundongos no estudo de Abdurrachim et al. (2014) e no estudo de Noyan et al. (2005), em

ratos diabéticos. Esse fato pode ser explicado pela adaptação compensatória do organismo ao estresse oxidativo na obesidade induzida por dieta hiperlipídica, sugerindo que a mudança no sistema de defesa antioxidante e nos marcadores de estresse oxidativo no corpo pode ser específica do tecido, e por isso, os órgãos do corpo podem responder de maneiras diferentes (Farhangi et al., 2017; Maciejczyk et al., 2018).

O grupo redução calórica apresentou diminuição da atividade da SOD quando comparado ao grupo obesidade induzida por dieta, sem diferença estatística em relação ao grupo dieta padrão. Com base no mecanismo de adaptação compensatória, frente a produção de estresse oxidativo relatado por Farhangi et al. (2017) e Maciejczyk et al. (2018), é possível supor que a redução calórica pode ter sido eficaz em diminuir a produção de ânion superóxido (Colom et al., 2007), portanto, o grupo redução calórica não teve a necessidade de elevar a atividade antioxidante da SOD.

O exercício é um mecanismo protetor contra doenças inflamatórias crônicas não só por exercer efeito anti-inflamatório, mas também pelo seu efeito antioxidante (Zanchi et al., 2012; Goh et al., 2016; Pedersen, 2018). Estudos mostram que o exercício físico é capaz de aumentar as defesas endógenas, melhorando o equilíbrio redox em vários tecidos através da transcrição de enzimas antioxidantes, mediadas por Nrf-2 (Abreu et al., 2017; Done et al., 2017; Di Meo et al., 2017; Souza et al., 2017; Mohan e Gupta, 2018). Estudos apontam que o exercício físico regular protege contra ERO por melhorar mecanismos de proteção antioxidante no miocárdio (Golbidi e Laher, 2012).

No presente estudo, o grupo redução calórica associado ao treinamento resistido apresentou uma diminuição da atividade da SOD quando comparado à redução calórica por si e em relação ao padrão. Seguindo o mesmo raciocínio do aumento da atividade antioxidante pelo grupo dieta hiperlipídica – mecanismo de adaptação compensatória à produção de oxidantes (Farhangi et al., 2017; Maciejczyk et al., 2018) – é possível hipoteticamente, que a associação entre redução calórica e treinamento resistido também tenha diminuído a produção de ânion superóxido, uma vez que a atividade da SOD também estava diminuída frente à intervenção da redução calórica por si, entretanto, inusitadamente essa associação comparada à atividades basais foi ainda menor. Alterações regulatórias no estado oxidativo podem estar relacionadas com o aumento de enzimas antioxidantes, porém, Di Meo et al. (2017) cita que enquanto alguns estudos descrevem que o exercício físico pode provocar aumento na atividade de enzimas antioxidantes no músculo esquelético, como SOD, CAT e GPX, outros falharam em demonstrar essa melhora após exercício.

Uma maior atividade da superóxido dismutase leva ao aumento da produção de peróxido de hidrogênio (Shadel e Horvath, 2015; Brand, 2016). O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa advinda da dismutação de um radical livre, o ânion superóxido. Essa espécie reativa está envolvida em vários processos fisiológicos e pode reduzir a sensibilidade à insulina (Di Meo et al., 2017). O grupo obesidade induzida por dieta no presente estudo apresentou aumento da produção de agente oxidante no coração, pelo aumento da oxidação do DCFH, marcador indireto da produção de peróxido de hidrogênio, dado relacionado com o aumento da atividade da SOD. Corroborando com esses resultados, Zeng et al. (2015) revelaram que a dieta hiperlipídica deixa o miocárdio susceptível ao quadro de estresse oxidativo com aumento na oxidação de DCFH *in vitro* e *in vivo*. Gamez-Mendez et al. (2015) também demonstraram que 8 semanas de dieta hiperlipídica levaram ao aumento de estresse oxidativo e consequente disfunção endotelial das artérias coronárias de ratos obesos. A exposição crônica à ácidos graxos de cadeia longa podem aumentar a produção de ERO de origem mitocondrial, estando associada com comprometimento da via de sinalização de insulina (Gregor e Hotamisligil, 2011; Glass e Olefsky, 2012; Di Meo et al., 2017).

A redução calórica do presente estudo foi capaz de diminuir essa produção de oxidante quando comparado com o grupo obesidade induzida por dieta, sem diferença estatística quando comparado a dieta padrão, sugerindo que a redução calórica foi capaz de levar essa oxidação a condições basais. Os resultados apresentados até então apontam que animais com diminuição de calorias e gorduras da dieta obtiveram maior sensibilidade à insulina, possivelmente relacionada à diminuição de agentes oxidantes. A diminuição de gordura saturada e as dietas hipocalóricas, podem levar à cardioproteção no coração (Wende et al., 2012).

Estudos examinando o papel de ácidos graxos em miócitos cardíacos primários descobriram que o tratamento com palmitoleato ou oleato não alterou a viabilidade celular, enquanto 24 horas de tratamento com palmitato causou apoptose celular; bem como o tratamento de miócitos cardíacos adultos primários com excesso de ácidos graxos saturados também leva ao acúmulo de ceramidas e morte celular (Wende e Abel, 2010). Esses resultados reforçam a ideia que a diminuição de gordura do protocolo de redução calórica do presente estudo pode ter contribuído para diminuição da oxidação do DCFH no coração. Segundo Colom et al. (2007), a restrição calórica tem sido associada à diminuição da produção de radicais livres.

No presente estudo, o grupo redução calórica associado ao treinamento resistido apresentou menor oxidação do DCFH no coração quando comparado à redução calórica por si, inclusive a níveis basais. Sugere-se, portanto, um papel importante da redução calórica

associada ao treinamento resistido frente na regulação dos níveis de oxidantes celulares, sendo uma possível intervenção cardioterapêutica para doenças, embora esse tipo de treinamento não tenha apresentado resultados efetivos em condições normais. Sverdlov et al. (2016) sugerem que as características do tecido cardíaco exibem uma plasticidade que é mediada por fatores metabólicos relacionados à dieta e que podem ser melhorados pela intervenção dietética.

Sendo o peróxido de hidrogênio uma espécie reativa, quando produzido em maiores quantidades ele precisa ser retirado do organismo por meio de enzimas antioxidantes para não causar danos á macromoléculas. A CAT é também uma enzima que compõe o sistema antioxidante e catalisa o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. (Shadel e Horvath, 2015; Brand, 2016). O grupo obesidade induzida por dieta no presente estudo, apresentou diminuição da atividade da catalase quando comparado ao grupo dieta padrão, dado que corrobora com o aumento da oxidação do DCFH, sugerindo que esse sistema antioxidante torna se prejudicado sob essas condições dietéticas.

No presente estudo, ao grupo redução calórica da dieta apresentou diminuição da atividade da catalase quando comparado ao grupo dieta padrão, sem diferença estatística entre o grupo obesidade induzida por dieta, sugerindo que a redução calórica prejudica a atividade antioxidante da catalase, mesmo essa condição dietética tendo diminuído a oxidação do DCFH. Contudo, é importante destacar que a catálise do peróxido de hidrogênio pode ser feita por outras enzimas endógenas, como a GPX e o sistema tiorredoxina/tiorredoxina redutase (Trx/TrxR) (Birben, et al.,2012; Scheffer et al., 2012; Lennicke et al.,2015).

O grupo treinamento resistido não apresentou diferença estatística quando comparados ao grupo padrão e à redução calórica por si. Esses dados são semelhantes ao estudo de Barbosa et al. (2012), onde a atividade de CAT permanece inalterada em condições de exercício no coração de ratos. Entretanto a redução calórica associada ao treinamento resistido foi capaz de levar a atividade da catalase à valores basais, o que se relacionada com a oxidação do DCFH à níveis padrões no mesmo grupo. É importante destacar que embora estudos indiquem que o exercício tenha papel antioxidante (Zanchi et al., 2012; Goh et al., 2016), a modulação do sistema endógeno (Di Meo et al.,2017; Farhangi et al.,2017; Maciejczyk et al., 2018; Birben, et al.,2012; Scheffer et al., 2012; Lennicke et al.,2015), depende do tecido analisado (Sverdlov et al.,2016) e do tipo, intensidade e duração do exercício.

## 6 CONCLUSÃO

Tomados em conjunto, os resultados apontam importantes efeitos da redução calórica e sua associação ao treinamento resistido, embora o treinamento merece destaque na melhora do quadro de obesidade induzida por dieta.

A redução calórica por si parece melhorar parcialmente o quadro de resistência à insulina, uma vez que os valores de glicemia de jejum se mantiveram elevados. A sua associação com o treinamento resistido também foi capaz de aumentar a sensibilidade à insulina, diminuindo a glicemia de jejum e aumentando captação de glicose, sendo que este último indicador chegou a níveis normais, demonstrando efeitos benéficos dos modelos de intervenção.

A redução calórica apesar de ter diminuído o peso corporal total dos animais na 22ª semana, apresentou um aumento na 26ª, o que não tornou a intervenção eficaz, mesmo podendo ser explicado pela composição da redução dietética, demonstrando que tão importante quanto a quantidade de calorias, a composição dos nutrientes tem influência nesse e em outros indicadores analisados. O grupo redução calórica associado ao treinamento resistido apresentou um aumento de peso na 22ª semana, com consequente manutenção à valores normais posteriormente. Esse fato pode estar relacionado com a especificidade do treinamento uma vez que, pode induzir ao aumento de massa muscular promovendo maior captação de glicose e melhora da função mitocondrial com consequente aumento do gasto energético, se mostrando um importante aliado para controle de peso corporal sob essas condições.

O grupo redução calórica não foi capaz de reduzir o diâmetro do adipócito nesse período de tempo e nessa condição dietética, dados que se correlacionam com o peso e índice de adiposidade. A associação entre redução calórica e treinamento resistido foi capaz de diminuir o índice de adiposidade à valores normais, bem como modificar a perfil do tecido adiposo, reduzindo o diâmetro do adipócito à tamanhos normais. Esses dados estão diretamente relacionados com o peso corporal total e o índice de adiposidade, o que pode ter contribuído para melhora da sensibilidade à insulina, modulação do quadro de estresse oxidativo e diminuição da inflamação.

Enquanto a redução calórica por si não foi capaz de diminuir a inflamação mediada por IL-6, dado correlacionado com a glicemia de jejum elevada, peso, índice de adiposidade e diâmetro do adipócito, sua associação com treinamento resistido parece eficaz em melhorar esse perfil inflamatório, levando o conteúdo da interleucina 6 à valores basais, supostamente pela diminuição de gordura, aumento de massa muscular, e melhora da sensibilidade à insulina.

No que diz respeito à modulação redox, ambas as intervenções foram eficientes em diminuir a produção de agentes oxidantes, correlacionando com a melhora do quadro de resistência à insulina, enquanto a atividade antioxidante ainda permanece um pouco obscura frente aos mecanismos de compensação do sistema endógeno nesse tecido e aos nossos protocolos de intervenção.

Frente aos parâmetros analisados é possível perceber que o treinamento resistido em condições padrões não é capaz de promover efeitos significativos, mas parece possuir papel importante sob condições patológicas. Esse fato pode estar relacionado com as especificidades do treinamento, como duração, intensidade e frequência, porém, mais estudos são necessários para compreender os mecanismos do treinamento resistido. Até onde se sabe, este trabalho foi um dos primeiros a demonstrar em um único estudo os efeitos de um modelo de redução calórica da dieta associada ao treinamento resistido e sua relação na dinâmica da captação de glicose, sob parâmetros de estresse oxidativo e inflamação em tecido cardíaco.

Com base nos resultados apresentados, sugere-se que redução calórica da dieta e sua associação com o treinamento resistido revertem parcialmente as alterações metabólicas desencadeadas pela obesidade induzida por dieta hiperlipídica, mas vale destacar que o treinamento resistido tem papel fundamental na modulação dessas complicações, para além dos benefícios já descritos na literatura sobre aumento de massa e resistência muscular, podendo ser uma abordagem terapêutica para reduzir os riscos relacionados à resistência à insulina e ao dano cardíaco, porém, mais estudos são necessários para melhor elucidar os mecanismos pelo qual ambas intervenções podem contribuir para a prevenção e tratamento da doença.

## REFERÊNCIAS

- Abdelsadik A. High-fat diet modifies cytokine gene expression and exacerbates the effects of acute pancreatitis in the liver of rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2018;29(6):651-658.
- Abdurrachim D, Ciapaite J, Wessels B, Nabben M, Luiken JJ, Nicolay K1, Prompers JJ. Cardiac diastolic dysfunction in high-fat diet fed mice is associated with lipotoxicity without impairment of cardiac energetics in vivo. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(10):1525-37.
- ABESO (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica) (BR). Científico. Mapa da obesidade. Dados da OMS (Organização Mundial da Saúde). 2018.
- Abreu CC, Cardozo LFMF, Stockler-Pinto MB, Esgalhado M, Barboza JE, Frauches R, Mafra D. Does resistance exercise performed during dialysis modulate Nrf2 and NF- $\kappa$ B in patients with chronic kidney disease? *Life Sci*. 2017;188:192-197.
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
- Alí A, Boutjdir M, Aromolaran AS. Cardiolipotoxicity, Inflammation, and Arrhythmias: Role for Interleukin-6 Molecular Mechanisms. *Front Physiol*. 2019;9:1866.
- Alomar SY, Zaibi MS, Kępczyńska MA, Gentili A, Alkhuriji A, Mansour L, Dar JA, Trayhurn P. PCR array and protein array studies demonstrate that IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ) stimulates the expression and secretion of multiple cytokines and chemokines in human adipocytes. *Arch Physiol Biochem*. 2015;121(5):187-93.
- Amano SU, Cohen JL, Vangala P, Tencerova M, Nicoloro SM, Yawe JC, Shen Y, Czech MP, Aouadi M. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metab*. 2014;19(1):162-171.
- Annamalai S, Mohanam L, Raja V, Dev A, Prabhu V. Antiobesity, antioxidant and hepatoprotective effects of Diallyl trisulphide (DATS) alone or in combination with Orlistat on HFD induced obese rats. *Biomed Pharmacother*. 2017;93:81-87.
- Ansari JA1, Bhandari U, Pillai KK, Haque SE. farhudy. Effect of rosuvastatin on obesity-induced cardiac oxidative stress in Wistar rats--a preliminary study. *Indian J Exp Biol*. 2012;50(3):216-22.
- Antunes BM, Campos EZ, Dos Santos RVT, Rosa-Neto JC, Franchini E, Bishop NC, Lira FS. Anti-inflammatory response to acute exercise is related with intensity and physical fitness. *J Cell Biochem*. 2018.
- Antunes BM, Cayres SU, Lira FS, Fernandes RA. Arterial Thickness and Immunometabolism: The Mediating role of Chronic Exercise. *Curr Cardiol Rev*. 2016;12(1):47-51.
- Ayala JE, Samuel VT, Morton GJ, Obici S, Croniger CM, Shulman GI, Wasserman DH, McGuinness OP. Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Dis Model Mech*. 2010;3(9-10):525-34.



Balbaa M, Abdulmalek SA, Khalil S. Oxidative stress and expression of insulin signaling proteins in the brain of diabetic rats: Role of *Nigella sativa* oil and antidiabetic drugs. *PLoS One*. 2017;12(5).

Balteau M, Tajeddine N, de Meester C, Ginion A, Des Rosiers C, Brady NR, Sommereyns C, Horman S, Vanoverschelde JL, Gailly P, Hue L, Bertrand L, Beauloye C. NADPH oxidase activation by hyperglycaemia in cardiomyocytes is independent of glucose metabolism but requires SGLT1. *Cardiovasc Res*. 2011;92(2):237-46.

Bannister JV, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal*. 1987;32:279-312.

Bao P, Liu G, Wei Y. Association between IL-6 and related risk factors of metabolic syndrome and cardiovascular disease in young rats. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):13491-9.

Barbosa VA, Luciano TF, Vitto MF, Cesconetto PA, Marques SO, Souza DR, Bom K, Pimentel GD, Katashima CK, Ropelle ER, Pinho RA, De Souza CT. Exercise training plays cardioprotection through the oxidative stress reduction in obese rats submitted to myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2012;157(3):422-4.

Batatinha HAP, Biondo LA, Lira FS, Castell LM, Rosa-Neto JC. Nutrients, immune system, and exercise: Where will it take us? *Nutrition*. 2019;61:151-15

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012;5(1):9-19.

Boardman NT, Hafstad AD, Lund J, Rossvoll L, Aasum E. Exercise of obese mice induces cardioprotection and oxygen sparing in hearts exposed to high-fat load. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;313(5):1054-1062.

Weir GC, Bonner-Weir S. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*. 2004;53:16-21.

Botezelli JD, Coope A, Ghezzi AC, Cambri LT, Moura LP, Scariot PP, Gaspar RS, Mekary RA, Ropelle ER, Pauli JR. Strength Training Prevents Hyperinsulinemia, Insulin Resistance, and Inflammation Independent of Weight Loss in Fructose-Fed Animals. *Sci Rep*. 2016;6:31106.

Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15(4):798-808.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.

Brand MD. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radic Biol Med*. 2016;100:14-31.

Brestoff JR, Artis D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell*. 2015;161(1):146-160.

Cabral-Santos C, de Lima Junior EA, Fernandes IMDC, Pinto RZ, Rosa-Neto JC, Bishop NC, Lira FS. Interleukin-10 responses from acute exercise in healthy subjects: A systematic review. *J Cell Physiol*. 2018.

Camera FD, Pozzi BG, Paganini CS, Sorato HR, Tavares F, Pereira BDC, Pedroso GS, Roman SS, Silveira PCL, Nesi RT, Pinho RA. Cardioprotective effects of physical exercise on redox biology in mice exposed to hand-rolled cornhusk cigarette smoke. *Arch Biochem Biophys*. 2019;661:50-55.

Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:30.

Cildir G, Akıncılar SC, Tergaonkar V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends Mol Med*. 2013;19(8):487-500.

Colom B, Oliver J, Roca P, Garcia-Palmer FJ. Caloric restriction and gender modulate cardiac muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and oxidative damage. *Cardiovasc Res*. 2007;74(3):456-65.

Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe AM, Barker TA, Tipton KD, Wagenmakers AJ. Effect of resistance training on microvascular density and eNOS content in skeletal muscle of sedentary men. *Microcirculation*. 2014;21(8):738-46.

Coelho DF, Pereira-Lancha LO, Chaves DS, Diwan D, Ferraz R, Campos-Ferraz PL, Poortmans JR, Lancha Junior AH. Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44(10):966-72.

Collins KH, Hart DA, Seerattan RA, Reimer RA, Herzog W. High-fat/high-sucrose diet-induced obesity results in joint-specific development of osteoarthritis-like degeneration in a rat model. *Bone Joint Res*. 2018;7(4):274-281.

Cui M, Yu H, Wang J, Gao J, Li J. Chronic caloric restriction and exercise improve metabolic conditions of dietary-induced obese mice in autophagy correlated manner without involving AMPK. *J Diabetes Res*. 2013.

Cho J, Koh Y, Han J, Kim D, Kim T, Kang H. Adiponectin mediates the additive effects of combining daily exercise with caloric restriction for treatment of non-alcoholic fatty liver. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(11):1760-1767.

Choi K, Kim YB. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med*. 2010;25(2):119-29.

Dansinger ML, Gleason JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. *JAMA*. 2005;293 (1):43-53.

Davis RAH, Halbrooks JE, Watkins EE, Fisher G, Hunter GR, Nagy TR, Plaisance EP. High-intensity interval training and calorie restriction promote remodeling of glucose and lipid metabolism in diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2017;313(2):243-256.

Dayan PH, Sforzo G, Boisseau N, Pereira-Lancha LO, Lancha AH Jr. A new clinical perspective: Treating obesity with nutritional coaching versus energy-restricted diets. *Nutrition*. 2018;60:147-151.

De Salles BF, Simão R, Fleck SJ, Dias I, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Effects of resistance training on cytokines. *Int J Sports Med*. 2010;31(7):441-50.

Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Improvement of obesity-linked skeletal muscle insulin resistance by strength and endurance training. *J Endocrinol*. 2017;234(3):159-181.

Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol*. 2017;233(1):15-42.

Done AJ, Newell MJ, Traustadóttir T. Effect of exercise intensity on Nrf2 signalling in young men. *Free Radic Res*. 2017;51(6):646-655.

Doroszkó A, Dobrowolski P, Radziwon-Balicka A, Skomro R. New Insights into the Role of Oxidative Stress in Onset of Cardiovascular Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2018.

Dror E, Dalmas E1, Meier DT, Wueest S, Thévenet J, Thienel C, Timper K, Nordmann TM, Traub S, Schulze F, Item F, Vallois D, Pattou F, Kerr-Conte J, Lavallard V, Berney T, Thorens B, Konrad D, Böni-Schnetzler M, Donath MY. Postprandial macrophage-derived IL-1 $\beta$  stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation. *Nat Immunol*. 2017;18(3):283-292.

Dube S, Errazuriz I, Cobelli C, Basu R, Basu A. Assessment of insulin action on carbohydrate metabolism: physiological and non-physiological methods. *Diabet Med*. 2013;30(6):664-70.

Emelyanova L, Boukatina A, Myers C, Oyarzo J, Lustgarten J, Shi Y, Jahangir A. High calories but not fat content of lard-based diet contribute to impaired mitochondrial oxidative phosphorylation in C57BL/6J mice heart. *PLoS One*. 2019;14(7).

Engin A. The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Adv Exp Med Biol*. 2017;960:221-245.

Espinosa A, Henríquez-Olguín C, Jaimovich E. Reactive oxygen species and calcium signals in skeletal muscle: A crosstalk involved in both normal signaling and disease. *Cell Calcium*. 2016;60(3):172-9.

Exley MA, Hand L, O'Shea D, Lynch L2. Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *J Endocrinol*. 2014;223(2):41-8.

Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective Effect of High Intensity Interval Training and Nitric Oxide Metabolites (NO<sub>2</sub> (-), NO<sub>3</sub> (-)). *Iran J Public Health*. 2015;44(9):1270-6.

Farhangi MA, Nameni G, Hajiluian G, Mesgari-Abbasi M. Cardiac tissue oxidative stress and inflammation after vitamin D administrations in high fat- diet induced obese rats. *BMC Cardiovasc Disord*. 2017;17(1):161.

Farias JM, Bom KF, Tromm CB, Luciano TF, Marques SO, Tuon T, Silva LA, Lira FS, de Souza CT, Pinho RA. Effect of physical training on the adipose tissue of diet-induced obesity mice: interaction between reactive oxygen species and lipolysis. *Horm Metab Res.* 2013;45(3):190–6.

Faulks SC, Turner N, Else PL, Hulbert AJ. Calorie restriction in mice: effects on body composition, daily activity, metabolic rate, mitochondrial reactive oxygen species production, and membrane fatty acid composition. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61(8):781-94.

Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sánchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12(5):3117-3132.

Fiuza-Luces C, Santos-Lozano A, Joyner M, Carrera-Bastos P, Picazo O, Zugaza JL, Izquierdo M, Ruilope LM, Lucia A. Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(12):731-743.

Furnes MW, Zhao CM, Chen D. Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A study of high-fat diet-induced obesity in young rats. *Obes Surg.* 2009;19(10):1430-8.

Gaidhu MP, Anthony NM, Patel P, Hawke TJ, Ceddia RB. Dysregulation of lipolysis and lipid metabolism in visceral and subcutaneous adipocytes by high-fat diet: role of ATGL, HSL, and AMPK. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2010;298(4):961-71.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;316(2):129-39.

Gamez-Mendez AM, Vargas-Robles H, Ríos A, Escalante B. Oxidative Stress-Dependent Coronary Endothelial Dysfunction in Obese Mice. *PLoS One.* 2015;10(9).

Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab.* 2012;15(5):635-45.

Goh J, Goh KP, Abbasi A. Exercise and Adipose Tissue Macrophages: New Frontiers in Obesity Research? *Front Endocrinol (Lausanne).* 2016;7:65.

Golbidi S, Laher I. Exercise and the Cardiovascular System. *Cardiol Res Pract.* 2012.

Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, Goodyear LJ. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;297(2):495-504.

González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJJ, Moreno LA, Bray GA, Martínez JA. Obesity. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17034.

Gow ML, Garnett SP, Baur LA, Lister NB. The Effectiveness of Different Diet Strategies to Reduce Type 2 Diabetes Risk in Youth. *Nutrients.* 2018;10(8).

Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Ver Immunol.* 2011;29:415-45.

Hahn WS, Kuzmick J, Burrill JS, Donoghue MA, Foncea R, Jensen MD, Lavandro S, Arriaga EA, Bernlohr DA. Proinflammatory cytokines differentially regulate adipocyte mitochondrial metabolism, oxidative stress, and dynamics. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;306(9):1033-45.

Halliwell B. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(3):125-30.

Hariri N1, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* 2010;23(2):270-99.

Hempel SL, Buettner GR, O'Malley YQ, Wessels DA, Flaherty DM. Dihydrofluorescein diacetate is superior for detecting intracellular oxidants: comparison with 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, 5(and 6)-carboxy-2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, and dihydrorhodamine 123. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(1-2):146-59.

Heydemann A. An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res.* 2016.

Heo JW, Yoo SZ, No MH, Park DH, Kang JH, Kim TW, Kim CJ, Seo DY, Han J, Yoon JH, Jung SJ, Kwak HB. Exercise Training Attenuates Obesity-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Mitochondria-Mediated Apoptosis in the Skeletal Muscle. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(10).

Hong J, Kim K, Kim JH, Park Y. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiovascular Disease and Exercise. *Int J Vasc Med.* 2017.

Hornberger TA Jr1, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol.* 2004;29(1):16-31.

Howell S, Kones R. "Calories in, calories out" and macronutrient intake: the hope, hype, and science of calories. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2017;313(5):608-612.

Hurrle S, Hsu WH. The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomed J.* 2017;40(5):257-262.

Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6184-223.

Kang YE, Kim JM, Joung KH, Lee JH, You BR, Choi MJ, Ryu MJ, Ko YB, Lee MA, Lee J, Ku BJ, Shong M, Lee KH, Kim HJ. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS One.* 2016;11(4).

Kesharwani V, Chavali V, Hackfort BT, Tyagi SC, Mishra PK. Exercise ameliorates high fat diet induced cardiac dysfunction by increasing interleukin 10. *Front Physiol.* 2015;6:124.

Kirwan AM, Lenighan YM, O'Reilly ME, McGillicuddy FC, Roche HM. Nutritional modulation of metabolic inflammation. *Biochem Soc Trans.* 2017;45(4):979-985.

Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A, Kovacs P, Schön MR, Kern M, Stumvoll M, Blüher M. Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(3):506-15.

Krisan AD, Collins DE, Crain AM, Kwong CC, Singh MK, Bernard JR, Yaspelkis BB 3rd. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985).* 2004;96(5):1691-700.

Krishnan S, Cooper JA. Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans. *Eur J Nutr.* 2014;53(3):691-710.

Kwon HR, Han KA, Ku YH, Ahn HJ, Koo BK, Kim HC, Min KW. The effects of resistance training on muscle and body fat mass and muscle strength in type 2 diabetic women. *Korean Diabetes J.* 2010;34(2):101-10.

Lancaster GI, Langley KG, Berglund NA, Kammoun HL, Reibe S, Estevez E, Weir J, Mellett NA, Pernes G, Conway JRW, Lee MKS, Timpson P, Murphy AJ, Masters SL, Gerondakis S, Bartonicek N, Kaczorowski DC, Dinger ME, Meikle PJ, Bond PJ, Febbraio MA. Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. *Cell Metab.* 2018;27(5):1096-1110.

Lehnic AC, Dewal RS1, Baer LA, Kitching KM, Munoz VR, Arts PJ, Sindeldecker DA, May FJ, Lauritzen HPMM, Goodyear LJ, Stanford KI. Exercise Training Induces Depot-Specific Adaptations to White and Brown Adipose Tissue. *iScience.* 2019;11:425-439.

Lee H, Kim K, Kim B, Shin J, Rajan S, Wu J, Chen X, Brown MD, Lee S, Park JY. A cellular mechanism of muscle memory facilitates mitochondrial remodelling following resistance training. *J Physiol.* 2018;596(18):4413-4426.

Lee J, Lee S, Zhang H, Hill MA, Zhang C, Park Y. Interaction of IL-6 and TNF- $\alpha$  contributes to endothelial dysfunction in type 2 diabetic mouse hearts. *PLoS One.* 2017;12(11).

Leite RD, Durigan Rde C, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, Souza Md, Selistre-de-Araújo HS, Bouskela E, Kraemer-Aguiar LG. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metabolism.* 2013;62(10):1477-84.

Lennicke C, Rahn J, Lichtenfels R1, Wessjohann LA, Seliger B3. Hydrogen peroxide - production, fate and role in redox signaling of tumor cells. *Cell Commun Signal.* 2015;13:39.

Lepore SM, Maggisano V, Bulotta S, Mignogna C, Arcidiacono B, Procopio A, Brunetti A, Russo D, Celano M. Oleacein Prevents High Fat Diet-Induced Adiposity and Ameliorates Some Biochemical Parameters of Insulin Sensitivity in Mice. *Nutrients.* 2019;11(8).

Lijnen HR, Van Hul M, Hemmeryckx B. Caloric restriction improves coagulation and inflammation profile in obese mice. *Thromb Res.* 2012;129(1):74-9.

Lovren F, Teoh H, Verma S. Obesity and atherosclerosis: mechanistic insights

Can J Cardiol. 2015;31(2):177-83.

Lundbaek K.Br. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. *Med J.* 1962;1(5291):1507-13.

Maciejczyk M, Żebrowska E, Zalewska A, Chabowski A. Redox Balance, Antioxidant Defense, and Oxidative Damage in the Hypothalamus and Cerebral Cortex of Rats with High Fat Diet-Induced Insulin Resistance. *Oxid Med Cell Longev.* 2018.

Malekmohammad K, Sewell RDE, Rafieian-Kopaei M. Antioxidants and Atherosclerosis: Mechanistic Aspects. *Biomolecules.* 2019;9(8).

Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2014 Jun 26;6(6):462-77.

Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord.* 2015;13(10):423-44.

Mardare C, Krüger K, Liebisch G, Seimetz M, Couturier A, Ringseis R, Wilhelm J, Weissmann N, Eder K, Mooren FC. Endurance and Resistance Training Affect High Fat Diet-Induced Increase of Ceramides, Inflammasome Expression, and Systemic Inflammation in Mice. *J Diabetes Res.* 2016.

Mathur N, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm.* 2008.

Matsubara T, Mita A, Minami K, Hosooka T, Kitazawa S, Takahashi K, Tamori Y, Yokoi N, Watanabe M, Matsuo E, Nishimura O, Seino S. PGRN is a key adipokine mediating high fat diet-induced insulin resistance and obesity through IL-6 in adipose tissue. *Cell Metab.* 2012;15(1):38-50.

McArdle MA, Finucane OM, Connaughton RM, McMorrow AM, Roche HM. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:52.

Maioli TU, Gonçalves JL, Miranda MC, Martins VD, Horta LS, Moreira TG, Godard AL, Santiago AF, Faria AM. High sugar and butter (HSB) diet induces obesity and metabolic syndrome with decrease in regulatory T cells in adipose tissue of mice. *Inflamm Res.* 2016;65(2):169-78.

Merry TL, Ristow M. Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice. *J Physiol.* 2016;594(18):5195-207.

Miller T, Mull S, Aragon AA2, Krieger J, Schoenfeld BJ. Resistance Training Combined With Diet Decreases Body Fat While Preserving Lean Mass Independent of Resting Metabolic Rate: A Randomized Trial. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2018;28(1):46-54.

Ministério da Saúde (BR). Agência Saúde. Brasileiros atingem maior índice de obesidade nos últimos treze anos. Dados da Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), de 2018. 2019.

Mohan S, Gupta D. Crosstalk of toll-like receptors signaling and Nrf2 pathway for regulation of inflammation. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:1866-1878.

Morris A. Palmitate is not a TLR4 agonist. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(7):382.

Murphy AM, Lyons CL, Finucane OM, Roche HM. Interactions between differential fatty acids and inflammatory stressors-impact on metabolic health. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015;92:49-55.

Murray PJ1, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(11):723-37.

Murumalla RK, Gunasekaran MK, Padhan JK, Bencharif K, Gence L, Festy F, Césari M, Roche R, Hoareau L. Fatty acids do not pay the toll: effect of SFA and PUFA on human adipose tissue and mature adipocytes inflammation. *Lipids Health Dis.* 2012;11:175.

Noyan T, Balaharoğlu R, Kömüroğlu U. The oxidant and antioxidant effects of 25-hydroxyvitamin D3 in liver, kidney and heart tissues of diabetic rats. *Clin Exp Med.* 2005;5(1):31-6.

O'Connor S, Rudkowska I. Dietary Fatty Acids and the Metabolic Syndrome: A Personalized Nutrition Approach. *Adv Food Nutr Res.* 2019;87:43-146.

Oh KJ, Lee DS, Kim WK4, Han BS, Lee SC, Bae KH. Metabolic Adaptation in Obesity and Type II Diabetes: Myokines, Adipokines and Hepatokines. *Int J Mol Sci.* 2016;18(1).

Oh S, Komine S, Warabi E, Akiyama K, Ishii A, Ishige K, Mizokami Y, Kuga K, Horie M, Miwa Y, Iwawaki T, Yamamoto M, Shoda J. Nuclear factor (erythroid derived 2) - like 2 activation increases exercise endurance capacity via redox modulation in skeletal muscles. *Sci Rep.* 2017;7(1):12902.

ONU (Organização das Nações Unidas) (BR). Desenvolvimento Sustentável. Mais de 1,4 bilhão de adultos em todo o mundo não praticam atividades físicas suficientes. Dados da primeira pesquisa feita para estimar tendências globais sobre o hábito de se exercitar, realizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), de 2001 a 2016. No Brasil, a inatividade física afeta 47% da população, 2018. 2019.

Palomer X, Pizarro-Delgado J, Barroso E, Vázquez-Carrera M. Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 2018;29(3):178-190.

Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest.* 2017;47(8):600-611.

Pedersen BK, Akerström TC, Nielsen AR, Fischer CP. Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol (1985).* 2007;103(3):1093-8.



Pedersen BK. The Physiology of Optimizing Health with a Focus on Exercise as Medicine. *Annu Rev Physiol*. 2018.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*. 2008;88(4):1379-406.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(8):457-65.

Pereira-Lancha LO, Campos-Ferraz PL, Lancha AH Jr. Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2012;5:75-87.

Pereira-Lancha LO, Coelho DF, de Campos-Ferraz PL, Lancha AH Jr. Body fat regulation: is it a result of a simple energy balance or a high fat intake? *J Am Coll Nutr*. 2010;29(4):343-51.

Perona JS. Membrane lipid alterations in the metabolic syndrome and the role of dietary oils. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2017;1859(9 Pt B):1690-1703.

Pignatelli P, Menichelli D, Pastori D, Violi F. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights. *Kardiol Pol*. 2018;76(4):713-722.

Pinho RA, Sepa-Kishi DM, Bikopoulos G, Wu MV, Uthayakumar A, Mohasses A, Hughes MC, Perry CGR, Ceddia RB. High-fat diet induces skeletal muscle oxidative stress in a fiber type-dependent manner in rats. *Free Radic Biol Med*. 2017;110:381-389.

Reilly MP, Rohatgi A, McMahon K, Wolfe ML, Pinto SC, Rhodes T, Girman C, Rader DJ. Plasma cytokines, metabolic syndrome, and atherosclerosis in humans. *J Investig Med*. 2007;55(1):26-35.

Ringseis R, Eder K, Mooren FC, Krüger K. Metabolic signals and innate immune activation in obesity and exercise. *Exerc Immunol Rev*. 2015;21:58-68.

Rui L. Brown and Beige Adipose Tissues in Health and Disease. *Compr Physiol*. 2017;7(4):1281-1306.

Said MA, Abdelmoneem M, Almaqhawi A, Hamid Kotob AA, Alibrahim MC, Bougmiza I. Multidisciplinary approach to obesity: Aerobic or resistance physical exercise? *J Exerc Sci Fit*. 2018;16(3):118-123.

Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, Latini A, Pinho RA. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2012;37(6):1239-46.

Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*. 2015;163(3):560-9.

Sakurai T, Izawa T, Kizaki T, Ogasawara J, Shirato K, Imaizumi K, Takahashi K, Ishida H, Ohno H. Exercise training decreases expression of inflammation-related adipokines through reduction of oxidative stress in rat white adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;379(2):605-9.

Shehab M, Abd El-Kader. Aerobic versus resistance exercise training in modulation of insulin resistance, adipocytokines and inflammatory cytokine levels in obese type 2 diabetic patients. *Journal of Advanced Research*. 2011;2, 179-183

So M, Gaidhu MP, Maghdoori B, Ceddia RB. Analysis of time-dependent adaptations in whole-body energy balance in obesity induced by high-fat diet in rats. *Lipids Health Dis*. 2011;10:99.

Sokolova M, Sjaastad I, Louwe MC, Alfsnes K, Aronsen JM, Zhang L, Haugstad SB, Bendiksen BA, Øgaard J, Bliksøen M, Lien E, Berge RK, Aukrust P, Ranheim T, Yndestad A. NLRP3 Inflammasome Promotes Myocardial Remodeling During Diet-Induced Obesity. *Front Immunol*. 2019;10:1621.

Souto Padron de Figueiredo A, Salmon AB, Bruno F, Jimenez F, Martinez HG, Halade GV1, Ahuja SS, Clark RA, DeFronzo RA, Abboud HE, El Jamali A. Nox2 mediates skeletal muscle insulin resistance induced by a high fat diet. *J Biol Chem*. 2015;290(21):13427-39.

Souza MV, Leite RD, Souza Lino AD, Marqueti Rde C, Bernardes CF, Araújo HS, Bouskela E, Shiguemoto GE, Andrade Perez SE, Kraemer-Aguiar LG. Resistance training improves body composition and increases matrix metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. *Clinics (São Paulo)*. 2014;69(4):265-70.

Souza PS, Gonçalves ED, Pedroso GS, Farias HR, Junqueira SC, Marcon R, Tuon T, Cola M, Silveira PCL, Santos AR, Calixto JB, Souza CT, de Pinho RA, Dutra RC. Physical Exercise Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting Peripheral Immune Response and Blood-Brain Barrier Disruption. *Mol Neurobiol*. 2017;54(6):4723-4737.

Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, Blomqvist L, Hoffstedt J, Näslund E, Britton T, Concha H, Hassan M, Rydén M, Frisén J, Arner P. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. 2008;453(7196):783-7.

Sverdlov AL, Elezaby A, Qin F, Behring JB, Luptak I, Calamaras TD, Siwik DA, Miller EJ1, Liesa M, Shirihai OS, Pimentel DR, Cohen RA, Bachschmid MM, Colucci WS. Mitochondrial Reactive Oxygen Species Mediate Cardiac Structural, Functional, and Mitochondrial Consequences of Diet-Induced Metabolic Heart Disease. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(1).

Tang L, Gao X, Yang X, Liu C, Wang X, Han Y, Zhao X, Chi A, Sun L. Ladder-Climbing Training Prevents Bone Loss and Microarchitecture Deterioration in Diet-Induced Obese Rats. *Calcif Tissue Int*. 2016;98(1):85-93.

Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:93.

Thirupathi A, Freitas S, Sorato HR, Pedroso GS, Effting PS, Damiani AP, Andrade VM, Nesi RT, Gupta RC, Muller AP, Pinho RA. Modulatory effects of taurine on metabolic and oxidative stress parameters in a mice model of muscle overuse. *Nutrition*. 2018;54:158-164.

Thom G, Lean M. Is There an Optimal Diet for Weight Management and Metabolic Health? *Gastroenterology*. 2017;152(7):1739-1751.

Thomas SS, Zhang L, Mitch WE. Molecular mechanisms of insulin resistance in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2015;88(6):1233-1239.

Tiganis T. Reactive oxygen species and insulin resistance: the good, the bad and the ugly. *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(2):82-9.

Thompson D, Karpe F, Lafontan M, Frayn K. Physical activity and exercise in the regulation of human adipose tissue physiology. *Physiol Rev.* 2012;92(1):157-91.

Touati S, Montezano AC, Meziri F, Riva C, Touyz RM, Laurant P. Exercise training protects against atherosclerotic risk factors through vascular NADPH oxidase, extracellular signal-regulated kinase 1/2 and stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase downregulation in obese rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2015;42(2):179–85.

Townsend KL, Lorenzi MM, Widmaier EP. High-fat diet-induced changes in body mass and hypothalamic gene expression in wild-type and leptin-deficient mice. *Endocrine.* 2008;33(2):176-88.

Tseng YH, Cypess AM, Kahn CR. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(6):465-82.

Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;301(6):2181-90.

Usman M, Volpi EV. DNA damage in obesity: Initiator, promoter and predictor of cancer. *Mutat Res.* 2018;778:23-37.

Vieira VJ, Valentine RJ, Wilund KR, Antao N, Baynard T, Woods JA. Effects of exercise and low-fat diet on adipose tissue inflammation and metabolic complications in obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;296(5):1164-71.

Villareal DT, Aguirre L, Gurney AB, Waters DL, Sinacore DR, Colombo E, Armamento-Villareal R, Qualls C. Aerobic or Resistance Exercise, or Both, in Dieting Obese Older Adults. *N Engl J Med.* 2017;376(20):1943-1955.

Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond).* 2006;30(3):400-18.

Wang CY, Liao JK. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. *Methods Mol Biol.* 2012;821:421-33.

Wang DD, Hu FB. Dietary Fat and Risk of Cardiovascular Disease: Recent Controversies and Advances. *Annu Rev Nutr.* 2017;37:423-446.

Wang Y, Qian Y, Fang Q, Zhong P, Li W, Wang L, Fu W, Zhang Y, Xu Z, Li X, Liang G. Saturated palmitic acid induces myocardial inflammatory injuries through direct binding to TLR4 accessory protein MD2. *Nat Commun.* 2017;8:13997.

Wasinski F, Bacurau RF, Moraes MR, Haro AS, Moraes-Vieira PM, Estrela GR, Paredes-Gamero EJ, Barros CC, Almeida SS, Câmara NO, Araujo RC. Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet. *Mediators Inflamm*. 2013.

Wedell-Neergaard AS, Krogh-Madsen R, Petersen GL, Hansen ÅM, Pedersen BK, Lund R, Bruunsgaard H. Cardiorespiratory fitness and the metabolic syndrome: Roles of inflammation and abdominal obesity. *PLoS One*. 2018;13(3).

White PA, Cercato LM, Araújo JM, Souza LA, Soares AF, Barbosa AP, Neto JM, Marçal AC, Machado UF, Camargo EA, Santos MR, Brito LC. Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013;57(5):339-45.

Wende AR, Abel ED. Lipotoxicity in the heart. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Mar;1801(3):311-9.

Wende AR, Symons JD, Abel ED. Mechanisms of lipotoxicity in the cardiovascular system. *Curr Hypertens Rep*. 2012;14(6):517-31.

Willett W, Rockström J, Loken B, Springmann M, Lang T, Vermeulen S, Garnett T, Tilman D, DeClerck F, Wood A, Jonell M, Clark M, Gordon LJ, Fanzo J, Hawkes C, Zurayk R, Rivera JA, De Vries W, Majele Sibanda L, Afshin A, Chaudhary A, Herrero M, Agustina R, Branca F, Lartey A, Fan S, Crona B, Fox E, Bignet V, Troell M, Lindahl T, Singh S, Cornell SE, Srinath Reddy K, Narain S, Nishtar S, Murray CJL. Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet*. 2019;393(10170):447-492.

WHO (World Health Organization). Newsroom. Obesity and overweight. 2018. Acesso em 07 de janeiro de 2019. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Xiang Y, Donley J, Seletskaja E, Shingare S, Kamerud J, Gorovits B. A Simple Approach to Determine a Curve Fitting Model with a Correct Weighting Function for Calibration Curves in Quantitative Ligand Binding Assays. *AAPS J*. 2018;20(3):45.

Xie L1, Jiang Y, Ouyang P, Chen J, Doan H, Herndon B, Sylvester JE, Zhang K, Molteni A, Reichle M, Zhang R, Haub MD, Baybutt RC, Wang W. Effects of dietary calorie restriction or exercise on the PI3K and Ras signaling pathways in the skin of mice. *J Biol Chem*. 2007;282(38):28025-35.

Yamashita AS, Belchior T, Lira FS2, Bishop NC, Wessner B, Rosa JC, Festuccia WT. Regulation of Metabolic Disease-Associated Inflammation by Nutrient Sensors. *Mediators Inflamm*. 2018.

Yaspelkis BB 3rd, Singh MK, Trevino B, Krisan AD, Collins DE. Resistance training increases glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*. 2002;175(4):315-23.

You T, Berman DM, Ryan AS, Nicklas BJ. Effects of hypocaloric diet and exercise training on inflammation and adipocyte lipolysis in obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(4):1739-46.

Zanchi NE, Almeida FN, Lira FS, Rosa Neto JC, Nicastro H, da Luz CR, de Siqueira Filho MA, Felitti V, Vainzof M, Seelaender M, Poortmans JR, Lancha AH Jr. Renewed avenues through exercise muscle contractility and inflammatory status. *ScientificWorldJournal*. 2012.

Zeng C, Zhong P, Zhao Y, Kanchana K, Zhang Y, Khan ZA, Chakrabarti S, Wu L, Wang J, Liang G. Curcumin protects hearts from FFA-induced injury by activating Nrf2 and inactivating NF- $\kappa$ B both in vitro and in vivo. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;79:1-12.

## **ANEXO**

**Carta de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UNESC)**



**Universidade do Extremo Sul Catarinense**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais**

**Resolução**

*A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex e pela Lei Federal 11.794/08, analisou o projeto abaixo.*

**Protocolo: 067/2014-2**

**Professor responsável:** Ricardo Aurino de Pinho

**Equipe:** Pauline Souza Effting

**Título:** “O papel da AMPK na inibição do sistema NADP(H) oxidase e na regulação da homeostase do cálcio em músculo esquelético e cardíaco de animais expostos a dieta hiperlipídica: um possível efeito regulatório do exercício sobre a resistência à insulina”

*Este projeto foi **Aprovado** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA. Foi autorizada a utilização do total de 132 Ratos Wistar de 60 dias, pesando aproximadamente 250 g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail [ceua@unesc.net](mailto:ceua@unesc.net).*

*The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:*

**Protocol number:** 067/2014-2

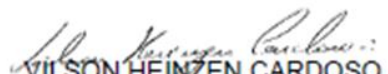
**Principal Investigator:** Ricardo Aurino de Pinho

**Researchers:** Pauline Souza Effting

**Project title:** “*The role of AMPK in the inhibition of NADP(H) oxidase system and in the regulation of calcium homeostasis in skeletal muscle and heart of animals exposed to high-fat diet: a possible regulatory effect of exercise on insulin resistance*”

*The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on [www.unesc.net/propex/ceua](http://www.unesc.net/propex/ceua) or by e-mail: [ceua@unesc.net](mailto:ceua@unesc.net).*

Criciúma, 02 de dezembro de 2014.

  
**VILSON HEIZEN CARDOSO**  
 Coordenador Adjunto da CEUA