

**Lucas Agostini**

**Efeito de treinamento de saltos verticais e do  
destreino sobre a expressão gênica de vias  
energéticas da musculatura esquelética de ratos Wistar  
induzidos à obesidade**



**Presidente Prudente  
2014**



UNIVERSIDADE ESTADUAL  
PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus de Presidente Prudente

**Lucas Agostini**

**Efeito de treinamento de saltos verticais e do  
destreinamento sobre a expressão gênica de vias  
energéticas da musculatura esquelética de ratos Wistar  
induzidos à obesidade**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia.

Orientador: Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim

**Presidente Prudente  
2014**





*"Dentro da noite que me rodeia. Negra como um poço de lado a lado. Eu agradeço aos Deuses que existem por minha alma indomável. Nas garras cruéis da circunstância, Eu não tremo, ou me desespero. Sob os duros golpes da sorte. Minha cabeça sangra, mas não se curva. Além deste lugar de raiva e choro. Paira somente o horror da sombra. E ainda assim, a ameaça do tempo vai me encontrar e deve me achar, destemido. Não importa se o portão é estreito não importa o tamanho do castigo eu sou o dono do meu destino eu sou o capitão de minha alma"*

***Poema Victoriano***

William Ernest Henley

**DEDICATÓRIA**

---

*Dedico essa dissertação ao homem só, que luta todos os dias contra seus fantasmas, seja ele quem for, esteja onde estiver.*

**AGRADECIMENTOS**

---



Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Ana Rita e Delcides, por tudo que fizeram por mim durante toda a minha vida, pelo apoio, compreensão, incentivo, broncas, e principalmente por todo amor e dedicação que sempre me deram, pelas oportunidades de estudar e pela educação que me deram desde pequeno. Amo muito vocês!

Agradeço também aos meus irmãos Renata, Fernanda, Gustavo e Fabricio por compreenderem minha chatice.

A minha segunda família que me acolheu maravilhosamente bem. A família “maria” Mário, Maria e Mariele Cavenaghi’s

Gostaria também de agradecer a todos os meus professores, desde o maternal até o mestrado, que muito compreenderam minha ignorância e permitiram que eu a reduzisse em especial aos Profs Drs Pedro, Ismael, Romulo e Diego.

A minha orientadora, Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim, que mesmo sem me conhecer me deu a oportunidade que esperava desde longa data e desde já peço desculpas caso não tenha suprido suas necessidades e expectativas. Muito Obrigado PATISER !!!

Agradeço aos eternos DEGAS: Afonso Malabin, Fabio Macarrão, Edson Preguiça, Richard Frango, Diego Cavalo e Alex Mineiro.

Aos meus amigos que dividiram seus tempos de estudo, lazer e zueira: Beisso, Ronaldão, Álvaro, Du Campos, Jogadô, Rafael Fidojoaquim e Robgol.

Agradeço aos meus companheiros de GPFis (pra mim este é o melhor lugar do mundo, ratoeiralandia, convenção de “vagabundo”!!!) Rafael Junges, Rogerio Batista, Armando Neto, Lais Rossi, Thais Batista, Carol Rippi e Tamara Gouvea, sem união não existe pesquisa.

E um agradecimento em especial a todos os professores que me disseram não e me obrigaram a crescer.

E um agradecimento mais que especial a você dona MARIANE CAROLINA CAVENAGHI que me atura há sete anos... e vai ter de me aturar por mais setenta. Te amo!!!

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE TABELAS E QUADROS</b>	<b>xiv</b>
<b>APRESENTAÇÃO</b>	<b>xvi</b>
<b>RESUMO</b>	<b>xviii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xix</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>OBJETIVO GERAL</b>	<b>26</b>
<b>OBJETIVO ESPECÍFICO</b>	<b>28</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>30</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>38</b>
<b>ARTIGO 1</b>	<b>39</b>
<b>ARTIGO 2</b>	<b>55</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>77</b>

## **LISTA DE FIGURAS**

---

## **Artigo 1**

**Figura 1:** Cinética do lactato sanguíneo de ratos Wistar exercitados ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais.....

**Figura 2:** Cinética do lactato sanguíneo de ratos Wistar induzidos a obesidade e exercitados ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais.....

**Figura 3:** Área total sob a cinética de lactato dos grupos E1 e E2.....

**Figura 4:** Área total sob a cinética de lactato do grupo OE1 e OE2.....

**Figura 5:** Área sob a curva do comportamento do limiar anaeróbio dos grupos E1 e E2.....

**Figura 6:** Área sob a curva do comportamento do limiar anaeróbio dos grupos OE1 e OE2.....

## **Artigo 2**

**Figura 1:** Expressão gênica de Prkaa2 corrigido por Gapdh em ratos Wistar.....

**Figura 2:** Expressão gênica de Mef2a corrigido por Gapdh em ratos Wistar.....

**Figura 3:** Expressão gênica de Slc2a4 corrigido por Gapdh em ratos Wistar.....

**Figura 4:** Expressão gênica de Ppargc1a corrigido por Gapdh em ratos Wistar.....

## **LISTA DE TABELAS E QUADROS**

---

## **Artigo 1**

**Tabela 1:** Dados da evolução de peso corpóreo em 4 momentos distintos: peso nas 2, 4 6 e 8 semanas, dos grupos Exercitados Sedentários, Obesos Exercitados e Obesos. ....

## **Artigo 2**

**Tabela 1:** Genes específicos que foram analisados e seus respectivos primers.....

**Tabela 2:** Evolução do peso corpóreo dos animais em doze semanas.....

## **APRESENTAÇÃO**

---



A presente dissertação de mestrado foi desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFis) da Universidade Estadual Paulista (Campus de Presidente Prudente), sob a orientação da Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim. A apresentação dá-se inicialmente por uma breve introdução com o objetivo de contextualização do tema principal, seguida por dois artigos científicos, os quais estão em consonância com os requisitos do programa de Pós-graduação em Fisioterapia, foram redigidos de acordo com as normas dos periódicos aos quais serão submetidos.

Os artigos que estão de acordo com as normas do programa e dos periódicos aos quais serão submetidos. Da mesma forma, as figuras e tabelas estão localizadas no corpo do texto dos artigos e não em páginas separadas, como na versão final para a submissão. Abaixo estão listados os artigos científicos que serão apresentados, bem como seus respectivos autores e periódicos para os quais serão encaminhados.

**Artigo I** Lucas Agostini; Thais Batista Dutra; Armando Florido Ribeiro Neto; Rafael Junges Moreira; Patrícia Monteiro Seraphim. Respostas Lactacidêmicas e de Peso Corporal Frente a Diferentes Modelos de Treinamento em Ratos Wistar. Este artigo será submetido ao periódico internacional: Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports (WEBQualis A1).

**Artigo II** Lucas Agostini; Thais Batista Dutra; Armando Florido Ribeiro Neto; Rafael Junges Moreira; Patrícia Monteiro Seraphim. O treinamento de saltos verticais promove melhora da expressão de genes do metabolismo energético muscular mesmo após 4 semanas de destreinamento. Este artigo será submetido ao periódico internacional: Journal of Applied Physiology. (WEBQualis A1).

## Resumo

Mudanças no padrão alimentar e aumento do sedentarismo na sociedade moderna se tornou uma questão de saúde pública. Uma medida cabível para atenuar o balanço energético positivo seria a prática de treinamento físico, destacando-se o treinamento resistido como um método utilizado para melhorar o desempenho anaeróbico. O objetivo do presente estudo foi investigar respostas lactacidêmicas e composição corporal após treinamento crônico em ratos Wistar submetidos a dois modelos de treinamento intermitente de alta intensidade e após a verificação avaliar o efeito do treinamento e do destreino sobre a expressão de genes do metabolismo energético em músculo esquelético de ratos Wistar. Foram utilizados noventa e seis ratos Wistar divididos em duas levas, pesando 250g mantidos em biotério em gaiolas plásticas coletivas, temperatura e ciclo claro/escuro controlados, divididos em seis grupos (n=7 animais por grupo): S=sedentário, E1=Exercitado1, E2=Exercitado2, alimentados com ração para roedores, OS=Induzido à obesidade, OE1=Obeso exercitado1, OE2=Obeso exercitado2, alimentados com dieta hiperlipídica. D - Ratos exercitados e destreinados alimentados com ração padrão. S5 - Ratos sedentários de cinco meses de idade, alimentados com ração padrão. OD - Ratos induzidos à obesidade, exercitados e destreinados. O5 - Ratos de cinco meses de idade induzidos à obesidade e sedentários. Grupos E1, OE1 treinados com protocolo proposto por Tamaki 1992 e grupos E2 e OE2 treinados com protocolo proposto por Tamaki 1992 com modificações. Para determinação da intensidade do estímulo foi utilizado um lactímetro Yellow Spring 1500. Para a quantificação dos genes a técnica utilizada foi RT-PCR. Anova one way e teste t de student foram utilizados para analisar as diferenças estatísticas entre os grupos. Valores de p inferiores a 5% foram considerados significativos. Incrementos de 9% no grupo E1, 23% no grupo E2, 32% no grupo C, 36% no grupo OE1, 33% no grupo OE2 e 36% no grupo OS foram observados no peso corporal dos ratos. Concentrações de lactato de  $4,71 \pm 0,19$ ;  $6,47 \pm 0,57$ ;  $7,55 \pm 0,35$ ;  $5,5 \pm 0,77$  mmol foram observados ao longo das 8 semanas de treinamento nos grupos E1 e E2. Nos grupos OE1 e OE2 os valores observados foram de  $7,44 \pm 0,37$ ;  $7,9 \pm 0,57$ ;  $6,49 \pm 1,15$ ;  $5,44 \pm 0,49$ . Com o destreino, todos os grupos também apresentaram aumento de peso, porém os grupos O/O5 foram o que mais ganharam massa corporea. O grupo D se diferenciou do grupo S5 a partir da 8 semana. Porém o peso absoluto dos grupos /OD não se diferenciou do grupo O5. O gene *prkaa2* apresentou-se maior 48% no grupo E comparado ao grupo S5 e o grupo D 38% e 56% frente aos grupos S e S5. OD apresentou diferença de 49% e 36% quando comparado aos grupos O e O5. O gene *mef2a* apresentou-se aumentado no grupo OD em 48% e 60% quando comparado aos grupos O e O5. No gene *Slc2a4* o grupo D foi maior 43% e 46% aos grupos S e S5. OD, 52% maior frente ao grupo O. No gene *ppargc1a* o grupo OD apresentou queda de 58% e 48% quando comparado aos grupos OE e O5. Estímulos crônicos periodizados com cargas progressivas ou a 50% do peso corporal ajustadas semanalmente apresentaram declínio ao longo de 8 semanas frente a área total ou parcial da cinética do lactato nos grupos exercitados, podendo assim comprometer protocolos de treinamento anaeróbico mais longos sugerindo adaptações metabólicas dos animais. Porém o treinamento com pesos foi capaz de modular positivamente a expressão genica do metabolismo energético em musculo esquelético de ratos Wistar, independente da dieta ofertada.

**Palavra chave:** Ratos Wistar, Gene, dieta híper lipídica, lactato.

## Abstract

Changes in the pattern of feed in the increased sedentary lifestyle in modern society has become a matter of public health. A measure to mitigate the positive energy balance would be the practice of physical exercise, be with an emphasis on training weights, such as a method used to improve the anaerobic performance. The objective of the present study was to investigate the variables lactacidêmicas answers to body composition after chronic training in Wistar rats submitted to two models of high-intensity intermittent training to select the best training model and after to evaluate the effect of training and detraining about the genes expression of energy metabolism in skeletal muscle of Wistar rats. Ninety-six Wistar rats weighing 250 g remained in vivarium in plastic cages collective, with cycle day and night and temperature controlled, divided into six groups (n 7 animals per group). S - sedentary, E1 - exercise 1, E2 - exercise 2, ration fed to rodents, OS - Obese Sedentary, OE1 - Obeso Exercise 1, OE2 - Obeso Exercise 2, fed with high-fat diet. D - Rats exercised and untrained fed on standard ration. S5 - Sedentary Mice of five months old, fed with standard ration. Od - Induced Obesity Rats, exercised and untrained. O5 - five-month-old Rats induced obesity and sedentary. E1, OE1 groups trained with protocol proposed by Tamaki 1992 and groups E2 and OE2 trained with Protocol proposed Protocol for Tamaki 1992 with modifications. For determining the intensity of the stimulus was used a lactimeter Yellow Spring 1500. For the quantification of genes the technique used was RT-PCR. One way ANOVA and t test were used to analyze the statistical differences between the groups. P values less than 5 were considered significant. Increase of 9% in the group E1, 23% in the group E2, 32% in the group C, 36% in the group OE1, 33% and 36% in groups OE2 and Os respectively was observed in body compositions of rats. Concentrations of lactate the 4  $4,71 \pm 0,19$ ;  $6,47 \pm 0,57$ ;  $7,55 \pm 0,35$ ;  $5,5 \pm 0,77$  mmol was observed in the course of 8 weeks of training in the groups E1 and E2. In OE1 and OE2 the values observed was  $7,44 \pm 0,37$ ;  $7,9 \pm 0,57$ ;  $6,49 \pm 1,15$ ;  $5,44 \pm 0,49$  mmols. With the detraining, all groups also showed increased weight, however the groups and O/O5 O5 were what won corporea mass. Group D is differentiated from the Group S5 from week 8. But the absolute weight in the group OD don't was difference statistical of the group O5. The Prkaa2 gene expression show upper 48% in group E when compared in S5 and the group D 38% and 56% in relation of the S and S5 groups. OD was difference 49% and 36% in relation of the groups O and O5. The gene Mef2a showed upper in group OD in 48% and 60% in relation the group O and O5 respectively. In the Slc2a4 gene, the group D was greater 43% and 46% in comparison the groups S and S5. OD was 52% greater in relation O. The gene Ppargc1a the group OD presented fall of 58% and 48% in relation OE and O5 groups. Chronic stimulus periodized with progressive load or in 50% of the corporal weight adjusted weekly presented decline along 8 weeks in relation the partial or total area of the kinetic lactate in group exercise, compromising protocol of anaerobic training, suggest metabolic adaptations in animals. But, the training was able to modulate the gene expression positively energetic metabolism in skeletal muscle of Wistar rats, independent of diet offered.

**Keywords:** Wistar rats, Gene, hyper lipid diet, lactate.

## **INTRODUÇÃO**

---

O desejo de potencializar e perdurar ganhos fisiológicos ou o estado homeostático ideal do organismo remonta a períodos históricos da humanidade. A necessidade de escolha sempre causou controvérsia quanto ao tipo ideal e intensidade de exercício, visto que as diversas formas de estresse mecânico levam a adaptações orgânicas específicas. Sendo que todo e qualquer tipo de estresse em que o organismo seja submetido causa adaptação dentre os quais podemos citar o aumento do volume mitocondrial (Barbanti, 1997).

Mitocôndrias são organelas presentes no organismo humano e são essenciais para geração de energia celular em uma variedade de vias metabólicas chave para a homeostase e desempenho do indivíduo. A produção de mitocôndrias — denominada biogênese mitocondrial— é um processo complexo que envolve o orquestramento, a transcrição, tradução e importação de mais de 1000 proteínas codificadas por dois genes (Mick et al., 2011; Pagliarini et al., 2008; Scarpulla, 2008; Schmidt et al., 2010). Estas organelas variam consideravelmente na composição tecidual (Mootha et al., 2003a; Pagliarini et al., 2008) e remodelam as necessidades celulares (Baltzer et al., 2010; Hock and Kralli, 2009), indicando que o programa de biogênese mitocondrial é personalizável e sensível às condições ambientais. Sendo assim defeitos neste processo estão associados a uma variedade de disfunções musculares (Calvo and Mootha, 2010; DiMauro and Schon, 2003; Lowell and Shulman, 2005; Wallace, 2005).

Durante duas décadas, grandes avanços em decifrar a rede transcricional que conduzem a biogênese mitocondrial foram evidenciados. Com particular

importância a identificação do receptor proliferador – ativado pelo coativador 1 alfa (PGC-1a) (Puigserver et al., 1998).

O PGC-1a e coativadores relacionados (Kressler et al., 2002; Lin et al., 2002) ao PRC (PGC-1 related coactivator) (Andersson e Scarpulla, 2001) coordenam e ativam vários fatores de transcrição necessários para a biogênese mitocondrial (Scarpulla, 2008). Além disso, o PGC-1a é ativado pelo exercício, pela adaptação termogênica, pela mudança no estado redox celular, pelos fatores de crescimento e pela disponibilidade de nutrientes que é ofertada ao indivíduo durante o decorrer de sua vida (Hock e Kralli, 2009).

Com a mudança comportamental do padrão alimentar populacional, algumas doenças crônico-degenerativas, manifestam - se de forma sistemática como a diabetes tipo 2 e a resistência a insulina (Monteiro 2010) causando alterações no quadro de marcadores inflamatórios do indivíduo como: Interleucina 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral Alpha (TNF- $\alpha$ ) e proteína C reativa (Valerio et al.,2006; Panveloski –Costa et al., 2011; Carvalho et al., 2006.; Hotamisligil,2005).

A importância em identificar com precisão os fatores associados a doenças crônico-degenerativas, intensidade de exercício e relação entre ambos não está resumida apenas aos trabalhos nos quais seres humanos são objetos de estudo. Uma ferramenta que tem se mostrado interessante para a observação do organismo frente às variáveis acima citadas é a utilização de modelos experimentais com animais (Braga et al., 2004). Tendo um exemplo clássico onde Hotamisligil et al verificaram que o TNF- $\alpha$  (citocina pró inflamatória) era super expresso no tecido adiposo branco de camundongos

obesos afetando a sensibilidade insulínica dos animais. Similaridade observada em humanos obesos pouco tempo depois, tanto no tecido adiposo (TA) quanto na musculatura esquelética (Hotamisligil et al., 1995; Kern et al., 1995., Dandona et al.,2004).

Em condições fisiológicas ideais, a insulina regula a homeostase glicêmica por estimular a translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a membrana plasmática e na ausência de insulina encontra-se associado a membranas microssomais, geralmente o trans-Golgi, e sob estímulo insulínico é translocado para uma membrana plasmática, em particular, das células de tecido adiposo e musculatura estriada esquelética, fazendo a captação da glicose circulante regulando a glicemia (Machado; Schaan; Seraphim 2006) por meio da difusão facilitada em tecidos alvo periféricos insulino sensíveis (musculatura e tecido adiposo) (Machado et al.,2006). Oferecendo um controle metabólico mediado por estímulos anorexigênicos hipotalâmicos, que favorecem a diminuição da ingestão alimentar e estimulam o gasto energético (Patterson; Levin, 2008)

Em indivíduos obesos, a atividade inflamatória é maior (pois o tecido adiposo produz e secreta citocinas inflamatórias como TNF  $-\alpha$  e IL  $-6$ ), o que causa a diminuição da atividade tirosina cinase do receptor de insulina e IRS, pois com a inflamação as fosforilações do receptor de insulina e de seus substratos são residuais, mecanismo pelo qual leva a uma menor ativação de proteínas intracelulares como PI3 – cinase, uma menor captação de glicose (Léger et al., 2008) e a supressão da liberação de lipídios armazenados no tecido adiposo (Duarte et al., 2006).

Para a redução do quadro patológico induzido ou genético, de resistência à insulina, a tomada de medidas cabíveis se faz necessária, como o balanço energético controlado e o início em um programa de exercício físico, onde sua prática causa adaptações metabólicas e funcionais no organismo. Sendo importante destacar que as exigências distintas do treinamento crônico levam a adaptações orgânicas específicas (Barbanti, 1997). Dessa forma, o tipo, a intensidade, a duração e a frequência do treinamento físico são fatores determinantes das adaptações orgânicas a serem almejadas.

Ao cogitar o exercício físico como possível medida para a interrupção do arco-reflexo positivo, é preciso entender os mecanismos pelo qual ele age como o aumento da densidade mitocondrial a fim de promover o aumento da sensibilidade à insulina independente da redução do peso e da mudança na composição corporal, como demonstrado pela literatura. O principal efeito do exercício parece ser o aumento da expressão de elementos intracelulares da via de sinalização da insulina, em particular dos transportadores de glicose na musculatura esquelética (Luciano et al., 2002; O'Donovan et al., 2005; Teran-Garcia et al., 2005).

Além da melhora da sensibilidade à insulina no músculo, há evidências de que a resistência à insulina no fígado também pode ser reduzida (caracterizada pela redução da produção hepática de glicose), bem como o aumento da captação de glicose pelos adipócitos após o exercício físico (Rodnick et al., 1987; Peres et al., 2005). O exercício físico é aceito como fator capaz de melhorar a sensibilidade à insulina por meio de efeitos no músculo, no fígado e no tecido adiposo como proposto pela literatura (Rodnick et al., 1987; Goodyear & Kahn, 1998).



O exercício físico requer grande ajuste fisiológico para aumentar a demanda de energia que é utilizada para a realização do trabalho muscular, causando aumento significativo no gasto energético (Junior, 2011).

Ao diminuir a taxa de adenosina trifosfato (ATP) intracelular através da contração muscular uma proteína cinase ativada por 5'-AMP (AMPK) – que atua como um importante sensor do gasto energético - é ativada atuando no processo de translocação do GLUT4 para a membrana plasmática potencializando a captação de glicose independente da via da sinalização da insulina (Hardie e Sakamoto, 2005; MacLean 2002). Atividades que exijam maior dispêndio de energia conseguem ativar essa via metabólica com mais eficiência (Miyamoto, 2007). Nesse contexto um programa de exercício que seja capaz de potencializar a via da AMPK causando adaptações fisiológicas relevantes que sejam eficientes em reduzir tecido adiposo, regular a homeostasia glicídica, aumentar da capacidade oxidativa e que diminua a síntese de marcadores inflamatórios pode ser considerado uma medida não farmacológica para o tratamento e/ou prevenção das patologias causadas pela obesidade.

Assumindo o supracitado, a escolha da modalidade da atividade física e o tipo de treinamento a ser realizado são importantes, visto que cada estímulo proporciona uma adaptação específica, entre eles podemos citar os comumente usados em modelos experimentais como: a corrida, a natação, os saltos verticais e o levantamento de pesos. Dentre as possibilidades ainda devemos escolher a via energética que desejaremos trabalhar, seja ela de predominância glicolítica ou oxidativa.

O salto vertical acompanhado de utilização de anilhas de peso no dorso do animal é uma boa alternativa de treinamento por seu baixo custo e facilidade no manuseio, mesmo não sendo o tipo de treinamento mais utilizado em animais. O treinamento intermitente, neste caso, pode ser utilizado com o objetivo de melhorar o desempenho aeróbio, visto que a grande problemática para fisiologistas, treinadores físicos e profissionais da área da saúde, está em otimizar limiares anaeróbios em escalas cada vez maiores e em períodos menores de tempo de trabalho. Fica também evidente a importância de um método de treinamento sistêmico que melhore os resultados relacionados a este índice, visto a necessidade rápida de resultados, mas procurando também por atender a necessidade básica da preservação individual e orgânica imposta por estímulos e estresse, evitando assim o “overtraining” e a fadiga precoce durante o treinamento.

Já o treinamento contínuo em modelos de roedores e seres humanos parece resultar em maior eficiência devido a sua possível adaptabilidade de transformação de fibras tipo IIb (glicolítica) em tipo I (oxidativo), com aumento de expressão de PGC-1 $\alpha$  neste modelo de treinamento (Liang et al 2009) Coerentemente, Mortensen et al 2006 informaram recentemente que a superexpressão de PGC-1 $\alpha$  em células primárias do músculo esquelético de ratos levam ao aumento dos níveis de mRNA para a cadeia oxidativa lenta de miosina levando assim a diminuição dos níveis de mRNA para a via rápida glicolítica.

Talianin et al 2007 utilizando-se do conceito de “time efficiency” verificaram adaptações metabólicas e fisiológicas significantes quanto à utilização de protocolos de treinamento mais curtos e com maior intensidade de

trabalho no que diz respeito a patologias, como a obesidade e a síndrome metabólica. Estas adaptações tendem a um tempo perduto mais curto após a interrupção do programa selecionado.

Apesar dos avanços significativos na compreensão do PGC-1 $\alpha$  e seus fatores transcricionais correspondentes, importantes aspectos do controle de conteúdo mitocondrial celular permanecem pouco claras. Estes incluem processos pós transcricional na expressão do gene mitocondrial de controle, mecanismos de ativação-degradação mitocondrial e processos extra-mitocondriais que ajudam a coordenar a comunicação entre mitocôndrias e núcleo (Goldenthal e Marin-Garcia, 2004). Alguns mecanismos de controle pós transcricionais já são conhecidos por afetar a expressão de genes mitocondriais e a discordância global entre os níveis de proteína e mRNA celular (Mootha et al., 2003A). Tendo a macro - autofagia emergindo como um importante mecanismo para eliminar mitocôndrias danificadas (Youle e Narendra, 2011). Sendo assim, identificar fatores adicionais sujeitos a regulação pós transcricional elucidariam processos celulares que ajudariam a compreender e sincronizar o programa mitocondrial relacionado à biogênese.

## **OBJETIVO GERAL**

---

Avaliar o efeito do treinamento de saltos verticais com pesos e o destreinamento sobre expressão de proteínas envolvidas na captação da glicose na musculatura esquelética de ratos Wistar obesos induzidos por dieta.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

---

- 1) Investigar as respostas lactacidêmicas e de composição corporal de dois protocolos de treinamento anaeróbio e crônico de saltos verticais para ratos Wistar induzidos a obesidade por dieta hiperlipídica. (Artigo 1)
- 2) Avaliar a expressão de genes envolvidos na captação de glicose estimulada pela atividade contrátil: *Prkaa2* e *Slc2a4* (que codifica a proteína AMPK e GLUT4); (Artigo 2)
- 3) Avaliar a expressão gênica de *Mef2a* (Artigo 2)
- 4) Avaliar a expressão gênica de *Ppargc1a* (que codifica a proteína PGC1alfa); (Artigo 2)
- 5) Verificar a extensão dos possíveis ganhos com o treinamento pliométrico e sua durabilidade no destreino sobre estes parâmetros acima avaliados. (Artigo 2)

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

---



## **Procedimento Experimental**

Ratos Wistar pesando em torno de 250 gramas obtidos junto ao Biotério central da Unesp Câmpus de Botucatu permaneceram em biotério para animais da F.C.T Unesp campus de Presidente Prudente, em gaiolas coletivas de 3 a 5 animais com temperatura média de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas, iniciandoe às 7:00 h. Os animais controles (S, E, D e S5) foram alimentados com ração padrão, já os grupos obesos (O, OE, OD e O5) seguiram uma dieta hiperlipídica (dieta de cafeteria), utilizada por Panveloski-Costa, 2011, composta por: bacon, mortadela, salsicha, bolacha e refrigerante e ração padrão, numa proporção de aproximadamente 2:2:2:1:1:1 respectivamente, numa composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos a partir do segundo mês de vida e água de torneira foi fornecida ad libitum. O peso corpóreo (PC) dos animais foi registrado semanalmente. Conforme esquema abaixo, foram avaliados os ratos Wistar subdivididos nos seguintes grupos, sendo 7 animais por grupo:

**E** – Exercício / **OE** – Obeso Exercício / **S** – Sedentário / **O** – Obeso / **D** – Destreinado de 5 meses / **S5** – Sedentário de 5 meses / **OD** – Obeso Destreinado de 5 meses / **O5** – Obeso de 5 meses.

## **Treinamento Intermitente**

O modelo de treinamento intermitente com pesos usado foi o proposto por Tetsuro Tamaki et al. 1992, com algumas adaptações. O aparelho foi projetado de maneira que o animal permanecesse imobilizado por um colete adaptado sobre uma plataforma metálica.

A estimulação elétrica foi realizada utilizando clipe metálico que envolveu a extremidade da cauda do animal ligado a um eletro estimulador tipo Dualpex 961, da Quarker, calibrado pelo INMETRO. Os parâmetros utilizados foram: frequência 1 Hz, duração de 0,3s com intervalo de 2 s entre cada estimulação elétrica e a intensidade ajustada de maneira que o animal execute o movimento, variando de 3 a 6 mA. Esses parâmetros foram adotados por serem pulsos bidirecionais de média nula, não apresentando efeitos eletrolíticos, permitindo aplicações de longa duração sem risco de lesão aos tecidos.

Com esta estimulação o rato realizava o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo) levantando uma carga que era posicionada na parte posterior do colete. O protocolo de treinamento foi de três (3) séries de doze (12) repetições, três (3) vezes por semana, durante oito (8) semanas. Foram realizadas 3(três) sessões de adaptação ao treinamento na primeira semana sem incremento de carga: 1, 2 e 3 séries de 2 repetições do primeiro ao terceiro dia respectivamente. Nas primeiras 2 semanas, os animais realizaram o treinamento sem incremento de carga. Na terceira e quarta semana, uma carga equivalente a 50% do peso corporal (PC) (Lima, 2008) foi imposta. No período correspondente a quinta e sexta semana a carga foi ajustada a 60 % do peso corpóreo do animal. Durante a sétima semana a carga utilizada será de 70% do peso corpóreo do animal seguindo assim até o final do protocolo de treinamento.

A carga foi ajustada semanalmente de acordo com as variações da massa corporal. O movimento de “squat jump” foi testado e validado como

indutor de hipertrofia em animais semelhante à hipertrofia obtida em humanos levantadores de peso (Tamaki, 1997).

Trata-se de um protocolo de treinamento intermitente utilizado em estudos anteriores em nosso laboratório (Panveloski Costa, 2012). O treinamento iniciou juntamente com a dieta hiper lipídica, quando os animais atingiram a idade jovem adulta, aos 2 meses de idade.

### **Coleta de Material**

Os animais dos grupos S, E, O, OE foram anestesiados 24 horas após a última sessão de treinamento via intra peritoneal com anestésico Thiopental Sódico (60mg/kg peso corporal) e após perda dos reflexos corneanos e de retirada da pata à dor. Foram retirados os músculos: sóleo, gastrocnêmio e extensor longo dos dedos a fim de semi quantificar o RNAm de vários genes como: Prkaa2, Ppargc1A, Mef2a e Slc2a4. Essas amostras foram congeladas por imersão em N – Hexana resfriada a – 70°C em nitrogênio líquido, pelo método de congelamento de tecidos não fixados e posteriormente armazenados em botijão de nitrogênio líquido para posterior análise. Os animais dos grupos S5, D, O5 e OD foram submetidos ao mesmo procedimento 1 mês após a última sessão de treinamento.

### **Preparação das Amostras**

Para a quantificação dos genes foi utilizada a técnica de RT-PCR (reverse transcriptase-polimerase chain reaction).

### **Preparação das amostras para o RT-PCR (análise semi quantitativa)**

As amostras de tecido muscular foram homogeneizadas em homogeneizador modelo OMNI TH - USA (Lodan) com Brazol Reagent (LGC bio) após a extração dos tecidos e assim estocados em freezer - 70°C para posterior continuação do isolamento do RNA total (proporção: 0,1 g de tecido / 1mL de Brazol). A obtenção do RNA total das amostras foi realizada de acordo com as indicações propostas pela empresa (Invitrogen, EUA). Para extração de RNA total (proporção: 0,1 g de tecido / 1mL de Brazol). Após a homogeneização os tubos foram agitados em agitador próprio tipo vortex durante 2 minutos, posteriormente foi adicionado 250 uL de clorofórmio gelado, agitado novamente em agitador tipo vortex e logo após as amostras foram centrifugadas á 10.000 rpm a 4°C durante 20 minutos, o sobrenadante (fase aquosa) foi transferido para novos tubos contendo 500 uL de isopropanol ultra puro gelado, os tubos foram agitados por inversão durante 2 minutos e foram centrifugados á 10.000 rpm a 4°C durante 15 minutos; O sobrenadante foi desprezado por aspiração e o pellet lavado com 500 uL de etanol 70% sendo homogeneizado por inversão e logo após centrifugado a 10.000rpm a 4°C durante 10 minutos.

O sobrenadante foi removido e o precipitado seco em temperatura ambiente durante 20 minutos. A cada tubo foi adicionado 50µL de água DEPC (Dietil Pirocarbonato) para solubilização do precipitado em banho maria a 65°C. Posteriormente, foi feito a avaliação da concentração de RNA total utilizando-se 1 µL da amostra solubilizada de RNA adicionado a 79 µL de água DEPC para leitura em espectrofotômetro (Gene Quant, Amersham Biosciences, GE Healthcare) em 260 nm. Essa leitura permite o calculo da concentração de ácido nucléico da amostra. Uma unidade de densidade óptica (DO)

corresponde a aproximadamente 40µg/mL de fita simples e a relação DO260/DO280, permitiu estimar a pureza do ácido nucléico da amostra.

#### **Obtenção da cDNA a partir do RNA total:**

Amostras de 2µg de RNA total extraído foram submetidas à reação de transcrição reversa com primers randômicos para a síntese de uma fita de DNA complementar ao mRNA (cDNA). Para isto, adicionou-se a cada amostra: tampão da enzima (50 mM de Tris-HCl pH 8,3, 75 mM de KCl, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>), DTT (10 mM), mistura de dNTPs (0,5mM cada), primers randômicos (150ng), inibidor de RNase (40U) e a enzima M-MLV Reverse Transcriptase (200U/ul; Invitrogen, EUA), em volume final de 20 µL. Inicialmente os RNAs foram desnaturados a 65 °C por 5 minutos e a seguir incubados por 60 min a 42°C na presença da enzima. Após este período as reações foram incubadas a 70 °C por 15 min para desnaturação da enzima. Ao final da reação, os produtos foram diluídos com H<sub>2</sub>O estéril até o volume final de 50 µL. As incubações foram realizadas por banhos monitorados com termômetro digital automático.

#### **PCR para amplificação dos fragmentos dos genes:**

Resumidamente o protocolo de PCR a ser utilizado foi: alíquotas de 3 ml do produto final de RT-PCR (cDNA), juntamente com 50 pmol dos primers específicos para Prkaa2: Sense: 5' – TTGCCTTACCACCTCATAA TAG-3' e Antisense: 5' – AACTGCTTGATTGCTATACA-3', 40 ciclos, temperatura de anelamento 58°C, Ppargc1a: Sense: 5' – AAGACTATTGAGCGAACC TT-3'; Antisense: 5' – TTGGAATTGACTGACTGACA-3' (24 ciclos, temperatura de anelamento 58°C, 203 pb); Slc2a4: Sense: 5' – CCCCTCCAGGGCAAAGGAT-3'; Antisense: 5' – TCCTGGAGGGGAACAAGAA -3' (24 ciclos, temperatura de

anelamento 54°C; Mef2a: Sense: 5' – TAACACCAACCAGAACATCA-3';  
Antisense: 5' – CACTCACAACGACATACA TA-3' e do GAPDH: Sense: 5' –  
ACATCATCCCTGCATCCACT-3'; Antisense: 5' –  
GGGAGTTGCTGTTGAAGTCA-3' (40 ciclos, temperatura de anelamento 60°C,  
119 pb); foram submetidas à amplificação em 24 µl de um “mix” contendo 5,0 µl  
de tampão 10x Taq Polimerase (Prodinol), 0,5 µl de cada dNTP 10 mM, 1,5 µl  
de MgCl<sub>2</sub> 50 mM, 0,125 µl da enzima Taq DNA Polimerase [5U/µl] (Promega,  
USA) e 15,875 µl de água Mili-Q autoclavada. As reações de PCR foram  
realizadas com um passo inicial de desnaturação do molde de cDNA a 95° C  
por 2 minutos. Em seguida realizados ciclos de desnaturação a 95° C por 1  
minutos, anelamento com temperaturas específicas para cada primer conforme  
padronização de cada gene, e extensão de 72° C por 45 segundos. Por fim, o  
material foi resfriado a 4° C para a realização da eletroforese em gel de  
agarose. As incubações foram realizadas em termociclador automático Techne  
TC-312.

Os produtos amplificados foram posteriormente submetidos à  
eletroforese em gel de agarose-EtBr e visualizados com iluminação UV. As  
imagens foram adquiridas em equipamento de fotovideodocumentação  
(KODAK Molecular Imaging Software Version 4.0, 2-User e Eletronic UV  
Transilluminator Ultra. Lum. Inc) e para análise densitométrica das bandas  
obtidas foi utilizado software Scion Image (Scion Corporation, Frederick,  
Maryland, USA), apropriado para este fim.

### **Questões éticas**

Os procedimentos experimentais utilizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNESP – Campus Presidente Prudente, protocolo no 02/2013

## **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Após a verificação da distribuição normal dos dados de composição corporal e bioquímicos coletados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov utilizou-se como forma de estatística descritiva, medidas de tendência central (valores de média) e de medidas de dispersão (desvios padrão). A análise de variância (ANOVA one way) foi utilizada para analisar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as médias e seguidas do pós-teste de Tukey. Valores de probabilidade (p) inferiores a 5% foram considerados significantes estatisticamente e todos os dados da presente pesquisa foram processados e tratados no pacote estatístico SPSS for Windows, versão 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

## **RESULTADOS**

---



**ARTIGO I**

---

## **Respostas Lactacidêmicas e de Peso Corporal Frente a Diferentes Modelos de Treinamento em Ratos Wistar**

Lucas Agostini(1) Thais Batista Dutra(1) Armando Florido Ribeiro Neto(1)

Rafael Junges Moreira(1) Patrícia Monteiro Seraphim(1)

1. Departamento de Fisioterapia, Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho UNESP – Campus Presidente Prudente, SP, Brasil.

**Correspondência:** Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim – Departamento de Fisioterapia – Laboratório GPFis, Bloco III – FCT / UNESP – Rua Roberto Simonsen, 305 – Centro Educacional – CEP: 19060-900 – Presidente Prudente – SP – E-mail: [patricia@fct.unesp.br](mailto:patricia@fct.unesp.br)

### **Resumo**

Mudanças no padrão alimentar e aumento do sedentarismo na sociedade moderna se tornou uma questão de saúde pública. Uma medida cabível para atenuar o balanço energético positivo seria a prática de treinamento físico, destacando-se o treinamento resistido como um método utilizado para melhorar o desempenho anaeróbico. O objetivo do presente estudo foi investigar respostas lactacidêmicas e composição corporal após treinamento crônico em ratos Wistar submetidos a dois modelos de treinamento intermitente de alta intensidade. Foram utilizados quarenta e dois ratos Wistar pesando 250g mantidos em biotério em gaiolas plásticas coletivas, temperatura e ciclo claro/escuro controlados, divididos em seis grupos (n=7 animais por grupo): S=sedentário, E1=Exercitado1, E2=Exercitado2, alimentados com ração para roedores, OS=Induzido à obesidade, OE1=Obeso exercitado1, OE2=Obeso exercitado2, alimentados com dieta hiperlipídica. Grupos E1, OE1 treinados com protocolo proposto por Tamaki 1992 e grupos E2 e OE2 treinados com protocolo proposto por Tamaki 1992 com modificações. Para determinação da intensidade do estímulo foi utilizado um lactímetro Yellow Spring 1500. Anova one way e teste t de student foram utilizados para analisar as diferenças estatísticas entre os grupos. Valores de p inferiores a 5% foram considerados significativos. Incrementos de 9% no grupo E1, 23% no grupo E2, 32% no grupo C, 36% no grupo OE1, 33% no grupo OE2 e 36% no grupo OS foram observados no peso corporal dos ratos. Concentrações de lactato de  $4,71 \pm 0,19$ ;  $6,47 \pm 0,57$ ;  $7,55 \pm 0,35$ ;  $5,5 \pm 0,77$  mmol foram observados ao longo das 8 semanas de treinamento nos grupos E1 e E2. Nos grupos OE1 e OE2 os valores observados foram de  $7,44 \pm 0,37$ ;  $7,9 \pm 0,57$ ;  $6,49 \pm 1,15$ ;  $5,44 \pm 0,49$ . Estímulos crônicos periodizados com cargas progressivas ou a 50% do peso corporal ajustadas semanalmente apresentaram declínio ao longo de 8 semanas frente a área total ou parcial da cinética do lactato nos grupos exercitados, podendo assim comprometer protocolos de treinamento anaeróbio mais longos sugerindo adaptações metabólicas dos animais.

Palavras Chave: Lactato, Treinamento Intermitente, Saltos Verticais, Composição Corporal

## Abstract

Changes in dietary patterns and increased sedentary lifestyle in modern society has become a public health problem. For mitigating a positive energy balance one important point would be the practice of physical training, resistance training, in particular, as a method to improve anaerobic performance. The aim of this study was to investigate body composition and blood lactate responses after chronic training in Wistar rats subjected to two models of intermittent high-intensity training. Forty-two Wistar rats weighing 250g were used and kept in collective plastic cages in a room with controlled temperature and dark/light cycle. The animals were divided into six groups (n=7 rats per group): S = sedentary, E1 = exercised 1, E2 = exercised 2, fed with chow; OS = obese-induced, OE1= obese exercised 1, OE2 = obese exercised 2, fed with hiperlipidic diet. The training of jump squat was performed during 8 weeks. E1 and OE1 trained with jump squat protocol involving load of 50 % of body weight, and E2 and SO2 trained with jump squat protocol with initial load of 50 %, and from the fourth week the loads were increased for 60 % and 70 % of body weight. To determine the intensity of the stimulus, lactate serum was analyzed using lactimeter Yellow Spring 1500. One way ANOVA and the Student t test were used to analyze the statistical differences among groups.  $p < 0.05$  was considered significant. Increases of 9 % in the E1 group , 23% in the E2 group, 32 % in group C , 36 % in group SO1 , SO2 group in 33 % and 36 % in the OS group were observed in body weight. The values of serum lactate concentrations were:  $4,85 \pm 0,76$  e  $4,58 \pm 0,66$ ;  $6,07 \pm 2,35$  e  $6,87 \pm 2,22$ ;  $7,80 \pm 2,27$  e  $7,31 \pm 0,51$ ;  $4,95 \pm 1,40$  e  $6,05 \pm 1,27$  mmol for E1 and E2. The values of serum lactate concentrations were  $7,18 \pm 2,12$  e  $7,70 \pm 1,80$ ;  $7,50 \pm 2,23$  e  $8,30 \pm 2,0$ ;  $5,67 \pm 0,55$  e  $7,30 \pm 0,60$ ;  $4,95 \pm 1,13$  e  $5,93 \pm 1,44$  mmol for SO1 and SO2. #  $p < 0,05$ . Chronic continuum stimuli with progressive loads or 50 % of body weight adjusted weekly have provoked reduction in lactate concentration over the 8 weeks, and can thus compromising longer anaerobic training, suggesting metabolic adaptations of animal to this kind of protocol.

Keywords: Lactate, Intermittent Training, Jump squat, Body Composition

## INTRODUÇÃO

Com as mudanças no padrão alimentar e o aumento do sedentarismo na sociedade moderna, a obesidade se tornou uma questão de saúde pública, afetando aproximadamente 400 milhões de adultos em todo o mundo, com projeção de alcance a 700 milhões de obesos em 2015. (Dâmaso 2001; Oliveira et al 2003; Obesity and Overweight 2012).

Uma das possíveis medidas cabíveis para atenuar o balanço energético positivo seria o início em um programa de exercício físico, onde sua prática causaria diversas adaptações metabólicas e funcionais ao organismo. Vale destacar que as alterações, em longo prazo (treinamento crônico), levam a adaptações específicas ao indivíduo (Rivera e Frontera 2012), seguindo esse raciocínio, o tipo, a intensidade, a duração e a frequência do treinamento físico, tornam-se determinantes ao se trabalhar com populações específicas. (Davis et al 2009; Keating et al 2012; Monteiro et al 2013)

Apesar de o treinamento resistido ser um método comumente utilizado com o objetivo de melhorar o desempenho anaeróbico, recentemente, pesquisadores têm buscado entender mais a fundo os mecanismos fisiológicos envolvidos por trás desta prática (Braga et al 2004).

Nesse sentido, modelos experimentais com animais vêm se mostrando uma ferramenta interessante para analisar a adaptação do organismo frente às variáveis impostas pelo treinamento resistido (Braga et al 2006).

Sabe-se que o treinamento físico de alta intensidade realizado por curtos períodos de tempo tem efeitos significativos sobre o sistema glicolítico anaeróbico, de forma que o aumento da produção de ATP é acompanhado pelo aumento da produção de lactato muscular (Panvelosky-Costa et al 2011) e que a formação de lactato também está relacionada à taxa de produção energética pelo glicogênio muscular (Shulman 2005; Gibala 2009; Panvelosky-Costa et al 2011) deduzindo assim que a utilização das concentrações sanguíneas de lactato é um bom marcador de intensidade de exercício em humanos (Laursen et al 2002) e em modelos animais (Araujo et al 2009; Araujo et al 2010), sendo utilizado ultimamente para estimar a contribuição do metabolismo anaeróbico láctico no fornecimento energético (Bertuzzi et al 2010).

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi investigar as respostas lactacidêmicas e de composição corporal frente ao treinamento crônico de

ratos Wistar submetidos a dois modelos de treinamento intermitente tipo jump squat.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Quarenta e dois ratos da linhagem Wistar pesando em torno de 250 gramas obtidos junto ao Biotério central da Unesp, Câmpus de Botucatu permaneceram em biotério para animais da FCT Unesp Câmpus de Presidente Prudente com temperatura controlada, em gaiolas coletivas e ciclo claro/escuro de 12 horas.

Conforme esquemas abaixo foram subdivididos randomicamente nos seguintes grupos, sendo 7 animais por grupo:

E1 (Rato exercitado alimentado com ração padrão). E2 (Rato exercitado alimentado com ração padrão). OE1 (Rato induzido a obesidade exercitado 1). OE2 (Rato induzido a obesidade exercitado 2). S – Rato sedentário alimentado com ração padrão. OS – Rato induzido à obesidade e sedentário.

Os grupos obesos (OS, OE1 e OE2) receberam uma dieta hiperlipídica (dieta de cafeteria), utilizada por Panveloski-Costa (2011), composta por: bacon, mortadela, salsicha, bolacha, refrigerante e ração padrão, numa proporção de aproximadamente 2:2:2:1:1:1 respectivamente, numa composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos a partir do segundo mês de vida, caracterizando obesidade induzida. O peso corpóreo (PC) dos animais foi registrado semanalmente.

Já os grupos E1, E2 e S foram alimentados com ração padrão para roedores. Todos os animais receberam água *ad libitum*.

### **Comitê de Ética**

Os procedimentos experimentais utilizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNESP – Campus Presidente Prudente, protocolo nº 02/2013 e respeitaram os aspectos éticos envolvendo animais seguindo as resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

### **Composição Corporal**

O peso corpóreo do animal foi verificado em balança analítica HOYLE modelo KST-131 com precisão de 1 grama e capacidade máxima de 5 quilogramas.

### **Treinamento Intermitente**

O treinamento intermitente foi composto de um período de 08 semanas, onde o modelo de treinamento com pesos usado foi proposto por Tetsuro Tamaki (1992) para os grupos E1 e OE1, já para os grupos E2 e OE2 realizaram o treinamento proposto por Tamaki (1992) nas 4 semanas iniciais e as semanas subsequentes realizaram o treinamento com algumas adaptações propostas pelos autores. O aparelho foi projetado de maneira que o animal permanecesse imobilizado por um colete adaptado sobre uma plataforma metálica.

A estimulação elétrica foi realizada utilizando clipe metálico que envolveu a extremidade distal da cauda do animal ligado a um eletroestimulador tipo Dualpex 961, da Quarker, calibrado pelo INMETRO. Os parâmetros utilizados foram: frequência 1 Hertz (Hz), duração de 0,3s com intervalo de 2s entre cada estimulação elétrica e, a intensidade ajustada de maneira que o animal execute o movimento, variando de 3 a 6 mA. Esses parâmetros foram adotados por serem pulsos bidirecionais de média nula, não apresentando efeitos eletrolíticos, permitindo aplicações de longa duração sem risco de lesão dos tecidos.

Com esta estimulação o rato realizou o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo) levantando uma carga posicionada na parte posterior do colete. O protocolo de treinamento foi de 3 séries de 12 repetições, 3 vezes por semana, durante 8 semanas. Foram realizadas 3 (três) sessões de familiarização ao treinamento anteriormente a primeira semana de treino, sem incremento de carga: 3 séries de 2 repetições do primeiro ao terceiro dia respectivamente.

Os grupos treinados realizam nas primeiras 2 semanas um treinamento sem incremento de carga. Na terceira e quarta semana, uma carga equivalente a 50% do peso corporal (PC). Neste período os estímulos divergiram. Os grupos E1 e OE1 tiveram as anilhas de peso calculados referentes a 50% de seu peso corporal até o fim do protocolo de treinamento. Os grupos E2 e OE2 tiveram as anilhas de peso calculados nas semanas 5 e 6 referentes a 60% de seu peso corporal e nas semanas 7 e 8 calculados referente a 70% de seu peso corporal. Todos os valores foram readequados semanalmente de acordo com a variação do peso corpóreo de cada animal. O movimento de “squat jump” foi testado e validado como indutor de hipertrofia em animais,

semelhante à hipertrofia obtida em humanos levantadores de peso (Tamaki et al 1997).

### **Coleta de Sangue e Análise da Cinética de Lactato**

Quatro avaliações foram realizadas ao longo do estudo. Todas elas ao término de cada ciclo de 2 semanas (Primeira avaliação: segunda semana. Segunda avaliação: quarta semana. Terceira avaliação: sexta semana. 4 Quarta avaliação: oitava semana).

Para fins de avaliação foram coletados 25 µl de sangue arterial em capilares heparinizados, da região distal da cauda do animal e armazenados em tubos de polietileno tipo *ependorf* contendo 50 µl de fluoreto de sódio a 1%. O sangue foi coletado após 1ª, 2ª, 3ª séries e após 3, 5 e 7 minutos da execução do exercício. As análises de lactacidemia foram realizadas em lactímetro (YSI, Yellow Springs - 1500) por meio de reações eletroquímicas, e os resultados plotados em tabelas do software Excel para Windows para posterior verificação estatística.

### **Tratamento Estatístico**

Após a verificação da distribuição normal dos dados pela equação de Kolmogorov-Smirnov, como forma de estatística descritiva dos dados de composição corporal e bioquímicos coletados, foram utilizados valores de medidas de tendência central (valores de média) e de medidas de dispersão (desvios padrão). A cinética da curva de lactato foi calculada tomando por base a área sob a curva. A análise de variância (ANOVA one way) foi utilizada para analisar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as médias e seguidas do pós-teste de Tukey. Para a comparação entre valores médios, foi empregado o teste “t” de Student para amostras independentes. Valores de probabilidade (p) inferiores a 5% foram considerados significantes estatisticamente e todos os dados da presente pesquisa foram processados e tratados no pacote estatístico SPSS for Windows, versão 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

## **RESULTADOS**

Na tabela 1 são apresentados os dados da evolução de peso corpóreo em 4 momentos distintos: peso nas 2, 4, 6 e 8 semanas, dos grupos Exercitados Sedentários, Obesos Exercitados e Obesos. Pode-se observar que o peso do

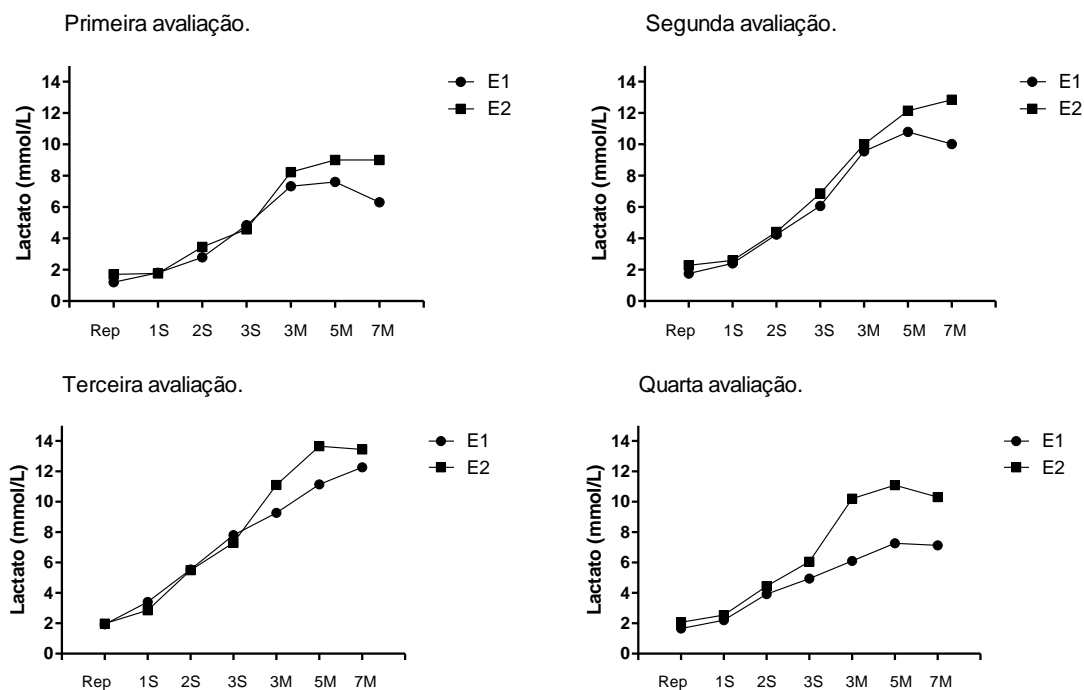
grupo E1 na 2 semana apresentou-se 8% e 9% inferior frente a 6 semana e 8 semana do grupo S. Ao analisar a 2 semana do grupo E2 pode-se observar uma inferioridade de 18% e 23% frente as semanas 6 e 8 semanas, 22%, 32% e 41% frente a 4, 6 e 8 semanas do grupo S. A 2 semana do grupo S foi 14%, 23% e 31% inferior em relação a 4, 6 e 8 semanas e a 4 semana 15% inferior a 8 semana. Ao analisar o grupo OE1, o mesmo apresentou-se inferior na segunda semana 11% e 21% em relação a 6 e 8 semana do grupo OE2 e 22% quando comparado a 8 semana do grupo O. A 2 semana do grupo OE2 apresentou-se 23% e 32% inferior a 6 semana e 8 semana do grupo OE2, 23% em relação a 8 semana do grupo O, já a 2 semana do grupo O foi 29% e 37% em relação as semanas subsequentes 6 e 8, bem como a 4 semana foi 21% inferior a 8 semana.

Grupo		2 Sem	4 Sem	6 Sem	8 Sem	Tecido Adiposo
E1	Md	354,0*	359,43	383,14	386,86	2,51
	d.p	31,84	35,82	38,20	37,52	0,59
E2	Md	311,43&	328,78	366,14∞	382,43	3,76
	d.p	24,25	21,94	23,74	25,99	1,54
S	Md	333,0∂	381,0	409,29	438,71	5,35
	d.p	36,65	15,86	16,93	19,73	1,4
OE1	Md	350,0⌈	368,43	424,86	477,86	5,83
	d.p	40,39	37,46	32,82	23,31	1,24
OE2	Md	346,0¶	388,57	425,29	458,29	11,06
	d.p	27,21	19,68	24,78	24,36	4,1
O	Md	314,14⌋	353,57	404,71	427,86	9,14
	d.p	49,03	46,84	36,96	33,61	3,57

**Tabela1:** Evolução do peso corpóreo dos animais em oito semanas de intervenção. Valores expressos em gramas. E1: Exercitado por protocolo proposto por Tamaki (1992). E2: Exercitado por protocolo proposto pelos autores. S: sedentário. Todos alimentados com ração padrão para roedores. OE1: Obeso exercitado por protocolo proposto por Tamaki (1992). OE2: Obeso exercitado por protocolo proposto pelos autores. OS: obeso sedentário. Grupos OE1, OE2 e OS alimentados com dieta hiperlipídica. \* p < 0,05 vs 6 e 8 semana S. ∂ p < 0,05 vs 4, 6, e 8 semana S. ⌈ p < 0,05 vs 6 e 8 semana OE2, 8 semana O. ¶ p < 0,05 vs 6 e 8 semana OE2, 8 semana O. ⌋ p < 0,05 vs 6 e 8 semana O. ∞ p < 0,05 vs 8 semana O.

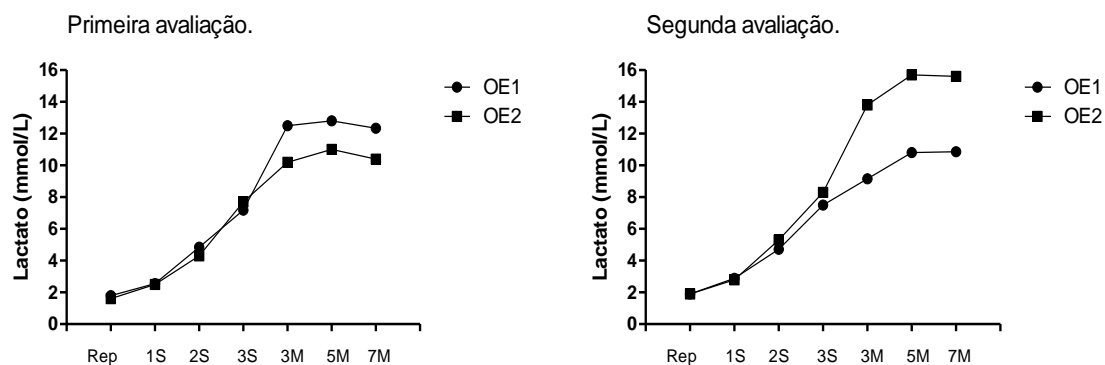
Na Figura 1 estão expressas as curvas de lactato sanguíneo de ratos submetidos a um protocolo de saltos verticais em diferentes intensidades. Na primeira avaliação o limiar anaeróbico do grupo E1 foi de  $4,85 \pm 0,52$ , no grupo E2 de  $4,58 \pm 0,66$ . Na segunda avaliação o grupo E1 foi de  $6,07 \pm 2,32$ , no grupo E2  $6,87 \pm 2,22$ . Na avaliação de numero três o grupo E1 foi de  $7,80 \pm 1,54$ , no grupo E2 de  $7,31 \pm 0,51$ . Na quarta avaliação a concentração de lactato sanguíneo do grupo E1 foi de  $4,95 \pm 1,58$ , no grupo E2 de  $6,05 \pm 1,21$ .

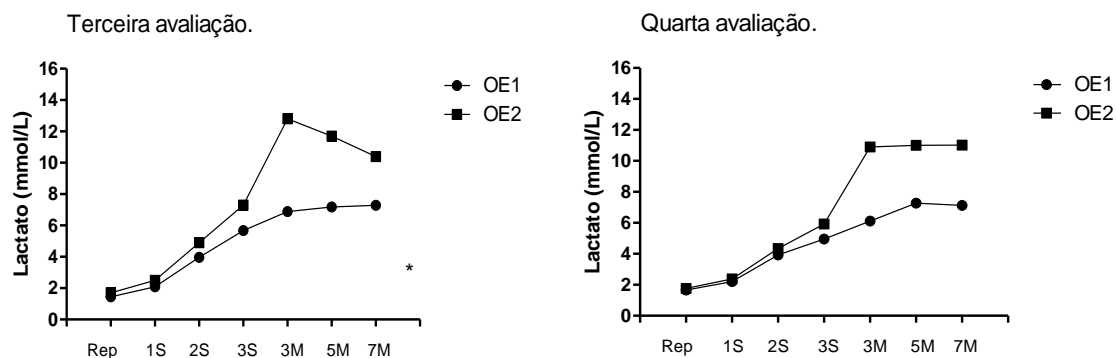




**Figura 1:** Cinética do lactato sanguíneo de ratos Wistar exercitados ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais. Valores expressos em mmol/L com média. Rep: repouso, 1S: Primeira serie, 2S: Segunda serie, 3S: Terceira serie, 3M: três minutos pós exercício, 5M: cinco minutos pós exercício, 7M: sete minutos pós exercício.  $p < 0,05$ . E1: Exercitado por protocolo proposto por Tamaki 1992. E2: Exercitado por protocolo proposto pelos autores. Grupos alimentados por ração padrão para roedores.

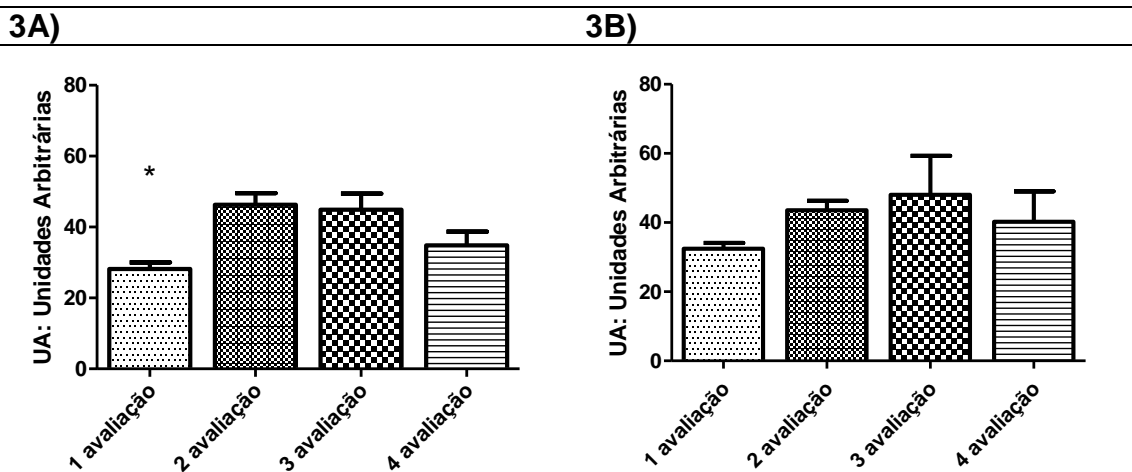
Na Figura 2 estão expressas as curvas de lactato sanguíneo de ratos submetidos a um protocolo de saltos verticais em diferentes intensidades. Na primeira avaliação o limiar anaeróbico do grupo E1 foi de  $7,18 \pm 2,12$  no grupo E2 de  $7,70 \pm 1,81$ . Na segunda avaliação o grupo E1 foi de  $7,5 \pm 2,11$  no grupo E2  $8,31 \pm 2,23$ . Na avaliação de numero três podemos notar que a concentração de lactato no limiar anaeróbico se diferenciou entre os grupos, onde a concentração do grupo E1 foi de  $5,67 \pm 0,55$  no grupo E2 de  $7,30 \pm 0,61$ . Na quarta avaliação o a concentração de lactato sanguíneo do grupo E1 foi de  $4,95 \pm 1,13$  no grupo E2 de  $5,93 \pm 0,93$ .





**Figura 2:** Cinética do lactato sanguíneo de ratos Wistar induzidos a obesidade e exercitados ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais. Valores expressos em mmol/L com média. Rep: repouso, 1S: Primeira serie, 2S: Segunda serie, 3S: Terceira serie, 3M: três minutos pós exercício, 5M: cinco minutos pós exercício, 7M: sete minutos pós exercício. \*  $p < 0,05$ . OE1: Obeso exercitado por protocolo proposto por Tamaki 1992. OE2: Obeso exercitado por protocolo proposto pelos autores. Grupos alimentados por dieta hiperlipídica.

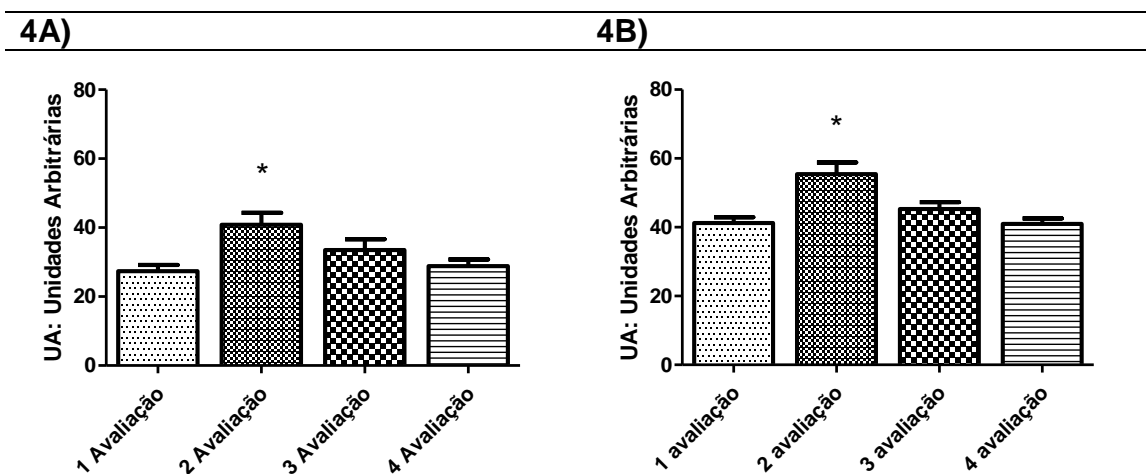
Na figura 3 estão expressos a área total da cinética da curva de lactato ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais com o acréscimo de peso em animais alimentados com ração padrão submetidos a diferentes protocolos de treinamento. Em 3A: O valor total da área do grupo E1 foi de  $28,17 \pm 4,85$ ,  $46,31 \pm 8,55$ ,  $44,92 \pm 12,92$ ,  $34,84 \pm 10,17$  ao longo das 4 avaliações, sendo que a segunda e terceira avaliação foram 39% e 36% maiores que a primeira avaliação. Em 3B: O valor total da área do grupo E2 foi de  $32,41 \pm 4,5$ ;  $43,58 \pm 7,17$ ;  $48,04 \pm 28$ ;  $40,27 \pm 23$  não sendo possível observar diferença estatística em momento algum ao longo da periodização.



**Figura 3:** Área total sob a cinética de lactato dos grupos E1 e E2. Em A: Área total sob a cinética de lactato do grupo E1. Valores expressos em unidade arbitrária com média e desvio padrão. ( $n = 7$  por avaliação) \*  $p < 0,05$  vs 2 avaliação e 3 avaliação. Em B: Área total sob a cinética de lactato do grupo E2. Valores expressos em unidade arbitrária com média e desvio padrão. ( $n = 7$  por avaliação) \*  $p < 0,05$ .

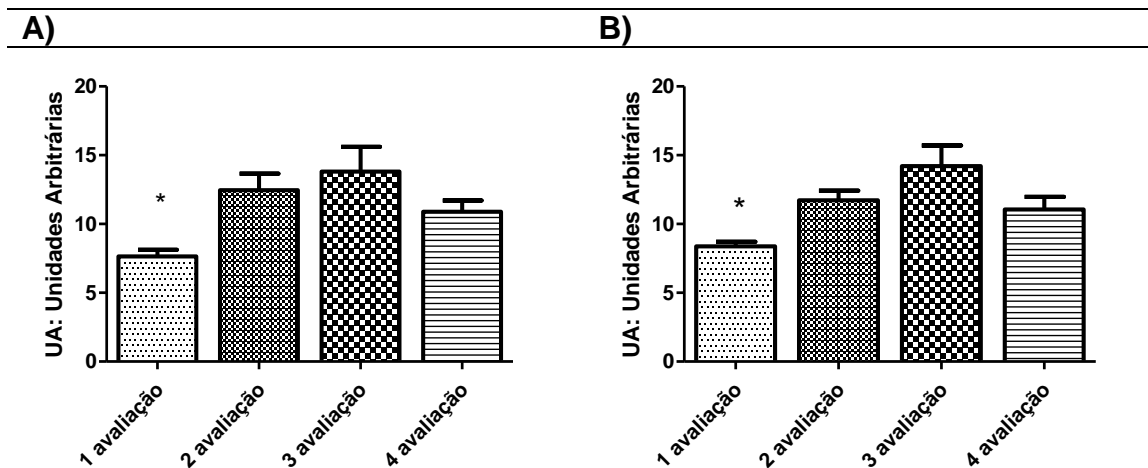
Na figura 4 estão expressos a área total da cinética da curva de lactato ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais com o acréscimo de

peso em animais alimentados com dieta hipercalórica submetidos a diferentes protocolos de treinamento. Em 4A: O valor total da área do grupo OE1 foi de  $28,38 \pm 4,66$ ;  $40,84 \pm 9,17$ ;  $33,49 \pm 8,24$ ;  $28,85 \pm 5,06$  ao longo das 4 avaliações, sendo possível observar que a segunda avaliação foi 30% maior frente a primeira e quarta avaliação. Em 4B: O valor total da área do grupo OE2 foi de  $41,26 \pm 4,33$ ;  $55,41 \pm 9,0$ ;  $45,29 \pm 5,27$ ;  $41,0 \pm 4,2$ . Os valores obtidos na segunda avaliação foram 25%, 18% e 25% inferiores quando comparados com a primeira, terceira e quarta avaliação.



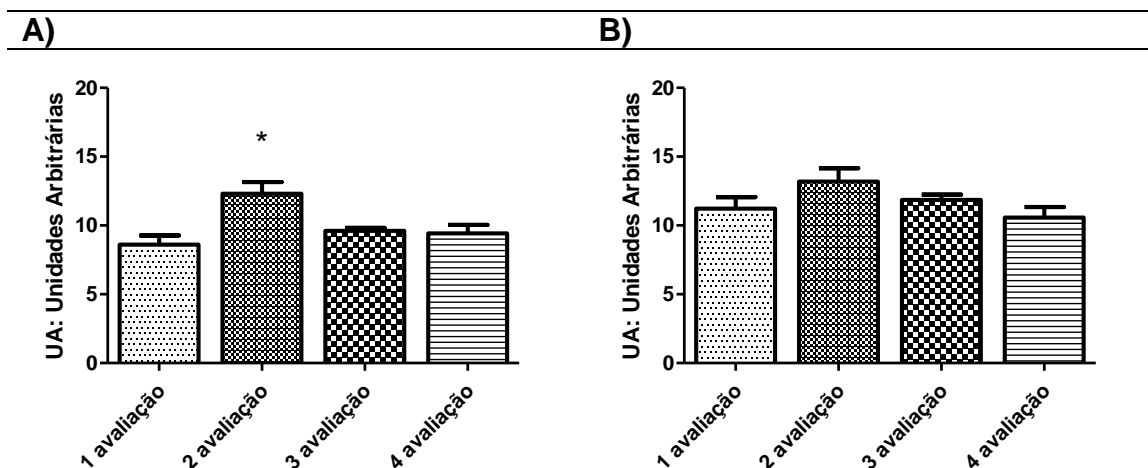
**Figura 4:** Área total sob a cinética de lactato do grupo OE1 e OE2. Em A: Área total sob a cinética de lactato do grupo OE1. Valores expressos em unidade arbitrária com média e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$  vs 1 avaliação e 4 avaliação. Em B: Área total sob a cinética de lactato do grupo OE2. Valores expressos em unidade arbitrária com média e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$  vs 1 avaliação, 3 avaliação e 4 avaliação.

Na figura 5 estão expostos os valores referentes à área parcial da cinética de lactato que compreende o limiar anaeróbio ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais com o acréscimo de peso em animais alimentados com ração padrão submetidos a diferentes protocolos de treinamento. Em 5A: O valor parcial da área do grupo E1 foi de  $7,64 \pm 1,25$ ;  $12,46 \pm 3,17$ ;  $13,81 \pm 4,76$ ;  $10,89 \pm 2,12$  ao longo das 4 avaliações, sendo que a segunda e terceira avaliação foram 46% e 41% maiores que a primeira avaliação. Em 5B: O valor parcial da área do grupo E2 foi de  $8,37 \pm 0,89$ ;  $11,73 \pm 1,85$ ;  $14,20 \pm 3,95$ ;  $11,05 \pm 2,4$  sendo possível observar um incremento de 42% da primeira avaliação quando comparado a 3 avaliação.



**Figura 5:** Área sob a curva do comportamento do limiar anaeróbio dos grupos E1 e E2. Em A: Área sob a curva da cinética de lactato do grupo E1. Valores expressos em unidade arbitrária com media e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$  vs 2 avaliação e 3 avaliação. Em B: Área parcial sob a cinética de lactato do grupo E2. Valores expressos em unidade arbitrária com media e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$  vs 3 avaliação.

Na figura 6 estão expostos os valores referentes à área parcial da cinética da curva de lactato ao longo de 8 semanas de treinamento de saltos verticais com o acréscimo de peso em animais alimentados com dieta hipercalórica submetidos a diferentes protocolos de treinamento. Em 6A: O valor total da área do grupo OE1 foi de  $8,61 \pm 1,73$ ;  $12,31 \pm 2,25$ ;  $9,60 \pm 0,55$ ;  $9,43 \pm 1,61$  ao longo das 4 avaliações, sendo possível observar que a segunda avaliação foi 33%, 20% e 21% maior frente a primeira, terceira e quarta avaliação. Em 6B: O valor total da área do grupo OE2 foi de  $11,22 \pm 2,23$ ;  $13,19 \pm 2,59$ ;  $11,86 \pm 1,01$ ;  $10,57 \pm 2,01$ . Não foi possível observar diferença entre os dados.



**Figura 6:** Área sob a curva do comportamento do limiar anaeróbio dos grupos OE1 e OE2. Em A: Área parcial sob a cinética de lactato do grupo OE1. Valores expressos em unidade arbitrária com media e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$  vs 1 avaliação, 3 avaliação e 4 avaliação. Em B: Área parcial sob a cinética de lactato do grupo OE2. Valores expressos em unidade arbitrária com media e desvio padrão. (n= 7 por avaliação)\*  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

Sendo o exercício físico uma ferramenta de baixo custo contra o balanço energético positivo, alterações metabólicas e diversas patologias, uma questão se torna relevante: a escolha e a intensidade do treinamento a ser praticado ao indivíduo, já que o mesmo é requerente de grande ajuste fisiológico para aumentar a demanda de energia que é utilizada para a realização do trabalho muscular, causando aumento significativo no gasto energético (Junior et al 2011).

Na fase inicial do exercício de alta intensidade ocorre a diminuição da taxa de adenosina trifosfato (ATP) intracelular e um subproduto do metabolismo energético aumenta de forma exponencialmente, o ácido láctico. (Miyamoto et al 2007; Wells et al 2009).

Estudos crônicos sugerem uma adaptação deste sistema energético, quando o estresse mecânico proposto não se faz crescente (Gibala 2009). Este fato pode ser observado durante a sessão de treinamento intermitente de alta intensidade no presente estudo, onde a resposta lactacidêmica apresentou regressão ao longo do tempo, com concentrações de lactato pico no 5<sup>o</sup> minuto de recuperação (Fig. 1 e 2) nos ratos alimentados com ração padrão ou induzidos à obesidade por dieta hipercalórica.

Redução dos valores lactacidêmicos em resposta a esse modelo de treinamento pode ter sido promovida por aumento, principalmente, dos estoques de fosfocreatina (PCr). No entanto, considerando-se que esforços de alta intensidade realizados em um curto período de tempo estimulam a biogênese mitocondrial por aumentos na expressão de PGC1- $\alpha$  (coativador 1-alfa de receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo), um fator transcricional envolvido na regulação de gene do metabolismo energético celular, como proposto por Gibala (2009), a menor resposta lactacidêmica nesse modelo pode também ser resultante da melhora da capacidade oxidativa.

Ao analisarmos a área da curva total do lactato ao decorrer do período de treinamento, podemos observar mais claramente a adaptação do organismo ao treinamento (Fig. 3a, 4a), ao passo que quando observamos o

comportamento do subproduto do metabolismo nas figuras 3b e 4b esta adaptação se aparenta mais acentuada. Este fato está de acordo com os achados de Rezaimanesh (2011) que observou um ganho de força em indivíduos que receberam treinamento de saltos verticais tipo squat jump com acréscimo de peso.

Após a primeira avaliação, podemos observar que no período em que os animais receberam o estímulo não houve diferença na cinética do lactato em relação às diferentes cargas impostas (Fig 5a e 5b), mesmo permanecendo bem próximo aos valores mínimos para serem considerados estímulos anaeróbios em roedores (Manchado et al 2006).

Em relação à população induzida à obesidade fica evidente a diferença do metabólito em questão quando avaliamos apenas parcialmente o comportamento da cinética do lactato, onde podemos observar o período de maior acúmulo ocorreu na segunda avaliação no grupo OE1 (Fig 6.a), porém o mesmo não pode ser afirmado para o grupo OE2 (Fig 6.b). Valores inferiores a 06 mmol foram encontrados nas terceira e quarta avaliações para ambos os grupos, sugerindo assim que os mesmos não estariam em acidose de treinamento e sim somente após, no período de descanso (Araujo et al 2009).

## **CONCLUSÃO**

O treinamento de saltos em ratos Wistar parece ser uma forma eficaz de induzir a acidose em animais com ou sem obesidade. Porém estímulos crônicos periodizados com cargas progressivas ou equivalentes a 50% do peso corporal, ajustadas semanalmente, apresentaram declínio ao longo de 08 semanas, resultados observados na análise de área total ou apenas do limiar anaeróbio da cinética do lactato nos grupos exercitados no presente estudo, podendo assim comprometer protocolos mais longos devido a adaptações metabólicas. Sugerindo que ao se utilizar de protocolo de saltos em ratos Wistar, é importante que seja aplicado um incremento mínimo de carga de 10% a cada ciclo.

## **Agradecimentos**

Esse estudo foi suportado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES).

## REFERÊNCIAS

ARAUJO GG, ARAUJO MB DAANGELO RA, MANCHADO FB, MOTA CSAM, RIBEIRO C, MELLO MAR. Máxima Fase estável de lactato em ratos obesos de ambos os gêneros Rev Bras Med Esporte, 2009; v.15 n.1 Niterói.

ARAUJO GG, PAPOTI M, GOBATTO-MANCHADO FB, MELLO MAR, GOBATTO CA. Padronização de um protocolo experimental de treinamento periodizado em natação utilizando ratos Wistar. Rev Bras Med Esporte 2010; 19: 51-6.

BRAGA LR, MELLO MAR, GOBATTO CA. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e do destreinamento sobre a gordura corporal de ratos obesos. Archivos Latino americanos de Nutrición, 2004; v. 54, n. 1, p. 58-65.

BRAGA LR, MELLO MAR, MANCHADO FB, GOBATTO CA. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e destreinamento sobre o peso corporal e metabolismo muscular de ratos obesos. Revista Portuguesa de Ciências do Desporto, 2006; v.6, p.160-169.

BERTUZZI RCM, SILVA AEL, PIRES FO, KISS MAPD. Visual determination of the fast component of excessive oxygen uptake after exercise. Rev Bras Med Esporte 2010; 16: 139-43.

DÂMASO A. Nutrição e exercício na prevenção de doenças. Rio de Janeiro, 2001; MEDSI.

DAVIS JN, TUNG A, CHANK SS, VENTURA EE, BYRD-WILLIAMS CE, ALEXANDER KE. Aerobic and Strength Training Reduces Adiposity in Overweight Latina Adolescents. Med Sci Sports Exerc. 2009; 41: 1494-503.

GIBALA M. Molecular responses to high-intensity interval exercise. Appl Physiol Nutr Metab 2009; 34: 428–32.

JUNIOR TG, SCHUTZ H, CHAPPELL, MA, KEENEY BK, MEEK TH, COPES LE, ACOSTA W, DRENOWATZ C, MACIEL RC, DIJK GV, KOTZ CM, EISENMANN JC. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. The Journal of experimental Biology 2011; 214: 206-229.

KEATING SE, HACKETT DA, GEORGE J, JOHNSON NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. J hepatol. 2012; 57: 157-66.

LAURSEN PB, RHODES EC, LANGILL RH, MCKENZIE DC, TAUNTON JE. Relationship of exercise test variables to cycling performance in an Ironman triathlon. Eur J Appl Physiol 2002; 87: 433-40.

MANCHADO FB, GOBATTO CA, CONTARTEZE RVL, PAPOTI M, ROSTOM de MELLO MA. Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos Rev Bras Med Esporte 2006; Vol. 12, Nº 5.

MIYAMOTO L, TOYODA T, HAYASHI, T. Effect of acute activation of 5<sub>α</sub>-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; 102:1007-1013.

MONTEIRO PA, ANTUNES BMM, SILVEIRA LS, FERNANDES RA., FREITAS Jr IF. Efeito do treinamento sobre fatores de risco de gordura hepática. *Medicina* 2013; 46(1): 17-23.

“Obesity and overweight,” WHO Report No.: fact sheet no 311, 2012; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.

OLIVEIRA AMA, CERQUEIRA EMM, SOUZA JS, OLIVEIRA AC. Sobrepeso e obesidade infantil: influencia de fatores biológicos e ambientais em Feira de Santana, BA. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2003; 47:2.

PANVELOSKI-COSTA AC, PINTO JÚNIOR DA, BRANDÃO BB, MOREIRA RJ, MACHADO UF, SERAPHIM PM. Resistive training reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity in obese rats induced by hyperlipidic diet. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2011; 55(2):155-63.

REZAIMANESH D, AMIRI-FARSANI P, SAIDIAN S. The effect of a 4 week plyometric training period on lower body muscle EMG changes in futsal players *Procedia Social and Behavioral Sciences* 2011; v 15 3138–3142.

RIVERA-BROWN AM, FRONTERA WR. Principles of Exercise Physiology: Responses to Acute Exercise and Long-term Adaptations to Training *PM&R* November 2012; V 4, Issue 11, , Pages 797–804.

SHULMAN RG. Glycogen turnover forms lactate during exercise. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, Hagerstown, 2005; v. 33, no. 4, p. 157-162.

TAMAKI T, UCHIYAMA S. NAKANO S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1992; 24(8):881-6.

TAMAKI T. AKATSUKA A. TOKUNAGA M. ISHIGE K. UCHIYAMA S. SHIRAISHI T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. *American Journal Physiology*, 1997; v. 273, p.11.

WELLS GD, SELVADURAI H, TEIN I. Bioenergetic provision of energy for muscular activity. *Paediatr Respir Rev* 2009; 10: 83–90.



**ARTIGO I I**

---

**A ação do treinamento de saltos verticais e do destreinamento em vias genicas do metabolismo energético.**

Lucas Agostini (1) Armando Florido Ribeiro Neto (1) Rafael Junges Moreira (1)  
Patrícia Monteiro Seraphim (1)

1. Departamento de Fisioterapia, Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho UNESP – Campus Presidente Prudente, SP, Brasil.

**Correspondência:** Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim – Departamento de Fisioterapia – Laboratório GPFis, Bloco III – FCT / UNESP – Rua Roberto Simonsen, 305 – Centro Educacional – CEP: 19060-900 – Presidente Prudente – SP – Email: patricia@fct.unesp.br

## Resumo

Mudanças no padrão alimentar da população mundial tem causado o aumento de doenças crônicas degenerativas dentre elas, o diabetes tipo 2. Para evitar a proliferação desta epidemia mundial uma das possíveis medidas cabíveis é o início em um programa de atividade física. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento de saltos verticais com pesos e o destreinamento sobre a expressão de genes do metabolismo energético em músculo esquelético de ratos Wistar. Cinquenta e seis ratos Wistar pesando em torno de 250 gramas foram divididos em 8 grupos (n=7), sendo mantidos em gaiolas coletivas com ciclo claro escuro de 12 horas e temperatura controlada. **S** - Ratos sedentários alimentados com ração padrão. **O** - Ratos induzidos à obesidade por dieta e sedentários. **E** - Ratos exercitados alimentados com ração padrão. **D** - Ratos exercitados e destreinados alimentados com ração padrão. **OE** - Ratos induzidos à obesidade por dieta e exercitados. **S5** - Ratos sedentários de cinco meses de idade, alimentados com ração padrão. **OD** - Ratos induzidos à obesidade, exercitados e destreinados. **O5** - Ratos de cinco meses de idade induzidos à obesidade e sedentários. Os grupos E, D OE e OD foram treinados com protocolo proposto por Tamaki 1992 com alterações na sobrecarga proposta pelos autores. Para a quantificação dos genes a técnica utilizada foi RT-PCR. Após a verificação de normalidade dos dados por teste Kolmogorov-Smirnov os dados foram expostos por média e desvio padrão. Anova one-way com pós-teste de Tukey foram utilizados para determinar a existência de diferenças intragrupos. Valores de p inferiores a 5% foram considerados significativos. Após o período de 8 semanas de treinamento todos os grupos apresentaram aumento de peso corpóreo comparado ao peso inicial de cada grupo. Com o destreinamento, todos os grupos também apresentaram aumento de peso, porém os grupos O/O5 foram o que mais ganharam massa corpórea. O grupo E/D se diferenciou do grupo S/S5 a partir da 8 semana. Porém o peso absoluto dos grupos OE/OD não se diferenciou do grupo O/O5. O gene *prkaa2* apresentou-se maior 48% no grupo E comparado ao grupo S5 e o grupo D 38% e 56% frente aos grupos S e S5. OD apresentou diferença de 49% e 36% quando comparado aos grupos O e O5. O gene *mef2a* apresentou-se aumentado no grupo OD em 48% e 60% quando comparado aos grupos O e O5. No gene *Slc2a4* o grupo D foi 43% e 46% aos grupos S e S5. OD, 52% maior frente ao grupo O. No gene *ppargc1a* o grupo OD apresentou queda de 58% e 48% quando comparado aos grupos OE e O5. O treinamento com pesos foi capaz de modular positivamente a expressão genica do metabolismo energético em musculo esquelético de ratos Wistar, independente da dieta ofertada.

Palavra chave: Expressão genica, *Slc2a4*, *ppargc1a*, *Prkaa2*, *mef2a*, Obesidade, Ratos Wistar

## Abstract

Changes in the feeding pattern of the world's population has caused the increase of chronic degenerative diseases including diabetes type 2. To avoid the proliferation of this worldwide epidemic one of the possible measures is the entrance in a program of physical activity. The objective of the present study was to evaluate the effect of the training of vertical jumps with weights and the detraining about the of genic expression of energy metabolism in skeletal muscle of Wistar rats. Fifty-six male Wistar weighing around 250 grams were divided into 8 groups (n7), being held in collective cages with 12:0 light cycle and temperature controlled. S – Mice sedentary fed standard food. O-induced obesity Rats by diet and sedentary. E - Rats exercised fed standard food. D -Rats exercised and fed on standard ration untrained. OE - Rats induced obesity by diet and exercised. S5 - sedentary Mice of five months old, fed with standard ration. OD - Rats induced obesity, exercised and untrained. O5 - Rats five-month-old induced obesity and sedentary. The groups E, D and OD OE were trained with protocol proposed by Tamaki 1992 with amendments on overload proposed by authors. For the quantification of genes the technique used was RT-PCR. After verification of data normality by Kolmogorov-Smirnov for test, the data was exposed by media and standard deviation. One-way Anova with Tukey post-test were used to determine the existence of intra-group differences. P values less than 5 were considered significant. After the period of 8 weeks of training all groups showed increases in body weight compared to the initial weight of each group. With the detraining, all groups also showed increased weight, but the groups were the most O5 won corporea mass. The E/D Group if the Group has differentiated S/S5 from week 8. However the absolute weight of OE/OD groups not differentiated O/O5 group. Gene *prkaa2* presented greater 48% in Group E compared to the Group S5 and the Group D 38% and 56% against the groups S and S5. OD presented difference of 49% and 36% when compared to the groups and O5. *Mef2a* gene was increased in Group D in 48% and 60% when compared to the groups and O5. *Slc2a4* gene Group D was 43% and 46% groups S and S5. OD, 52% greater against the group O. In the gene *ppargc1a* the OD group presented fall of 58% and 48% when compared to OE groups and O5. The weight training was able to modulate the genic expression positively energy metabolism in skeletal muscle of Wistar rats, independent of diet offered.

**Keywords:** Gene Expression, *Slc2a4*, *ppargc1a*, *Prkaa2*, *mef2a*, obesity, Wistar rats

## INTRODUÇÃO

Mudanças comportamentais e no padrão alimentar populacional são fatores precursores de doenças crônico-degenerativas, dentre as quais podemos citar, a obesidade, o diabetes tipo 2 e a resistência a insulina (19, 4,21) impedindo a homeostase glicêmica, não estimulando a translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a membrana plasmática (16). Evidenciando assim o importante papel da insulina no controle metabólico mediado por estímulos anorexigênicos hipotalâmicos, favorecendo a diminuição da ingestão alimentar e estimulando o gasto energético (26).

Em indivíduos obesos, é possível notar um maior quadro inflamatório, ocorrendo assim uma diminuição da atividade tirosina cinase do receptor de insulina e receptor de substrato insulínico (IRS) devido ao reduzido grau de fosforilação destas proteínas, o que gera menor ativação de proteínas intracelulares como PI3 – cinase e, conseqüentemente, uma menor captação de glicose (14) e a supressão da liberação de lipídios armazenados no tecido adiposo (5).

Uma medida cabível para a interrupção deste arco-reflexo positivo é o balanço energético controlado e o início de um programa de exercício físico, pois sua prática causa adaptações metabólicas e funcionais ao organismo. Considerando que todo e qualquer tipo de estresse ao qual o organismo seja submetido causa adaptação, várias proteínas intracelulares podem apresentar papel importante neste sentido e ter sua síntese aumentada, como o PGC1alfa (Coativador 1- Alfa do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma decodificado pelo gene Ppargc1a), responsável pelo aumento do volume mitocondrial, a proteína transportadora de glicose sensível à ação da insulina e atividade contrátil, o GLUT4 (decodificado pelo gene Slc2a4), a proteína cinase ativada por AMP (AMPK, decodificada pelo gene Prkaa2), e fator potenciador de miócito tipo 2a (MEF2a), que está envolvido na própria síntese de GLUT4.

Em condições fisiológicas ideais, estes genes são determinantes na captação de glicose e produção energética. (15, 7, 8), possibilitando a redução dos danos causados por mudanças comportamentais, porém, outra variável vem à tona: o tempo total que as possíveis melhoras permanecem no organismo estimulado pelo exercício, após sua cessação.

Sendo assim o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do treinamento de saltos verticais com pesos e destreino sobre a expressão de genes de metabolismo energético em músculo esquelético de ratos Wistar.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Cinquenta e seis ratos da linhagem Wistar pesando em torno de 250 obtidos juntamente ao Biotério central da Unesp, Câmpus de Botucatu permaneceram no Biotério II da FCT Unesp, Câmpus de Presidente Prudente, em gaiolas coletivas, sob temperatura média de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas. Foram subdivididos randomicamente nos seguintes grupos, sendo sete animais por grupo:

**S** – Sedentário (idade no sacrifício: 4 meses). **O** - Induzidos à obesidade e sedentários (idade no sacrifício: 4 meses). **E** – Exercitado (idade no sacrifício: 4 meses). **OE** - Induzidos à obesidade e exercitados por 8 semanas (idade no sacrifício: 4 meses). **D** - Exercitados por 8 semanas e destreinados por 4 semanas (idade no sacrifício: 5 meses). **S5** – Sedentário (idade no sacrifício: 5 meses). **OD** - Induzidos à obesidade, exercitados por 8 semanas e destreinados por 4 semanas (idade no sacrifício: 5 meses). **O5** - Induzidos à obesidade e sedentários (idade no sacrifício: 5 meses).

Os grupos obesos (OE, O, OD e O5) receberam uma dieta hiperlipídica (dieta de cafeteria), utilizada por Panveloski-Costa, 2011, composta por: bacon, mortadela, salsicha, bolacha, refrigerante a base de cola e ração padrão, na proporção de 2:2:2:1:1:1 respectivamente, sendo de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos a partir do segundo mês de vida. O peso corpóreo (PC) dos animais foi registrado semanalmente.

Os demais grupos (E, S, D, e S5) foram alimentados com ração padrão para roedores. Todos os animais receberam água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais do presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNESP – Câmpus Presidente Prudente, processo nº 02/2013 e respeitaram os aspectos éticos envolvendo animais seguindo as resoluções específicas.

### **Composição Corporal**

O peso corpóreo do animal foi verificado em balança analítica HOYLE modelo KST-131 com precisão de 1 grama e carga máxima de 5 quilogramas.

## **Treinamento Intermitente**

Com 2 mês de vida os animais foram submetidos a um programa de treinamento intermitente composto por um período de 8 semanas para os grupos E, D, OE e OD. Realizaram o treinamento proposto por Tamaki et al. (1992) nas 4 semanas iniciais e nas semanas subsequentes realizaram o treinamento com algumas adaptações propostas pelos autores. O aparelho de saltos foi projetado de maneira que o animal permanecesse imobilizado por um colete adaptado sobre uma plataforma metálica.

A estimulação elétrica foi realizada por um eletroestimulador tipo Dualpex 961, da Quarker, calibrado pelo INMETRO. Parâmetros: frequência: 1Hz, duração: 0,3s, intervalo: 2s e intensidade: de 3 a 6 mA. Parâmetros adotados por serem pulsos bidirecionais de média nula, não apresentando efeitos eletrolíticos.

O protocolo de treinamento foi composto por 3 séries de 12 repetições, 3 vezes por semana, durante 8 semanas. Foram realizadas três sessões de familiarização ao treinamento, anteriormente à primeira semana de treino, sem incremento de carga: 3 séries de 2 repetições.

Os grupos treinados realizam, nas primeiras 2 semanas, um treinamento sem incremento de carga. Na terceira e quarta semana, uma carga equivalente a 50% do peso corporal (PC). Na 5 e 6 semana, anilhas referentes a 60% do peso do animal foram afixadas ao aparelho e na 7 e 8 semanas, anilhas referentes a 70% foram afixadas. Todos os valores foram ajustados semanalmente. O movimento de “squat jump” foi testado e validado como indutor de hipertrofia em animais, semelhante à hipertrofia obtida em humanos levantadores de peso (36).

## **Destreinamento**

Após a oitava semana de treinamento os grupos E, S, OE, OS foram sacrificados e os demais grupos: S5, D, OS5 e OD foram submetidos ao destreinamento que consistiu na cessação total de qualquer estímulo externo referente ao treinamento por 4 semanas.

## **Quantificação do RNAm do gene do GAPDH, SLC2A4, MEF2a, PPARGC1a e PRKAA2**

As amostras de tecido musculares foram homogeneizadas em homogeneizador modelo OMNI TH – USA (Life technologies™ - GIBCO BRL, Gaithersburg, USA) com Brazol Reagent® (Invitrogen) conforme especificação do fabricante. 2,0 µg de RNA total foram submetidos à reação de transcrição reversa com 200U (Invitrogen, USA) para a síntese de uma fita de DNA complementar ao RNAm (cDNA). O protocolo da Reação em Cadeia de Polimerização utilizado foi: alíquotas de 1 µL do produto final de RT-PCR (cDNA), juntamente com 10pmol dos primers específicos sintetizados pela Sigma-Aldrich (San Diego, CA) para os genes da Tabela 1 (Sigma®):

Tabela 1: Genes específicos que foram analisados e seus respectivos primers.

Gene	Primer	Anelamento (°C)
GAPDH	Sense: 5' – ACATCATCCCTGCATCCACT-3'	58°C
	Antisense: 5' – GGGAGTTGCTGTTGAAGTCA-3'	
SLC2a4	Sense: 5' – CCCCTCCAGGGCAAAGGAT-3'	54 °C
	Antisense: 5' – TCCTGGAGGGGAACAAGAA -3'	
PRKAA2	Sense: 5' – TTGCCTTACCACCTCATAA TAG-3'	58 °C
	Antisense: 5' – AACTGCTTGATTGCTATACA-3'	
MEF2a	Sense: 5' – TAACACCAACCAGAACATCA-3'	58 °C
	Antisense: 5' – CACTCACAACGACATACA TA-3'	
PPARGC1A	Sense: 5' – AAGACTATTGAGCGAACC TT-3'	58 °C
	Antisense: 5' – TTGGAATTGACTGACTGACA-3'	

Cada reação de amplificação (25µL) foi realizada na presença de GoTaq DNA Polimerase (Promega, USA), 10mM de dNTPmix, 50mM de MgCl<sub>2</sub>, 50U/mL da enzima Taq DNA Polimerase [5U/µL] (Promega) e 10mM primers (sense e antisense) de acordo com as instruções do fabricante. As incubações foram realizadas em termociclador automático Techne TC-312. Posteriormente 8µL de produto amplificado foi submetido à corrida eletroforética em gel de agarose 1%. As imagens foram adquiridas em equipamento de fotovideodocumentação (KODAK Molecular Imaging Software Version 4.0, 2-User e Eletronic UV Transilluminator Ultra. Lum. Inc) e para análise densitométrica foi utilizado o *software* Scion Image (Scion Corporation, Frederick, Maryland, EUA).

Todos os genes foram normalizados pela expressão da Gapdh (proteína constitutiva), calculada pela razão entre os valores da densitometria dos genes de interesse e do gene constitutivo e posteriormente multiplicados por 100.



## **Coleta do material**

Após 24 horas da última sessão de treinamento, os animais foram submetidos a doze horas de jejum e foram sacrificados após anestesia (Tiopental sódico de 60 mg/kg do peso corporal de cada componente) por via intraperitoneal. Em seguida, foram retirados o músculo gastrocnêmio e o tecido adiposo branco periepídídimo (TA).

## **Análise estatística**

Após a verificação da distribuição normal dos dados de composição corporal e bioquímicos coletados, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, utilizou-se como forma de estatística descritiva, medidas de tendência central (valores de média) e de medidas de dispersão (desvios padrão). A análise de variância (ANOVA one way) foi utilizada para analisar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as médias e seguidas do pós teste de Tukey. Valores de P inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significantes, e todos os dados da presente pesquisa foram processados e tratados no *software* SPSS for Windows, versão 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

## **Resultados**

Na Tabela 2 é apresentado valor de peso corpóreo em 3 momentos distintos: peso inicial, peso da 8 semana de intervenção e peso final de ratos Wistar. Pode-se observar o ganho de peso ao longo das 3 avaliações em todos os grupos. No período de 8 semanas o grupo E/D apresentou um ganho de peso corpóreo de 29% frente ao seu peso inicial. Durante as 4 semanas de destreinamento, o ganho se elevou para 44%. O ganho do grupo S/S5 ao longo de 8 semanas foi de 40% e no período subsequente de 4 semanas de destreinamento o ganho foi 46%. O grupo OE/OD obteve um ganho de 44% no período de treinamento e de 63% no período de destreinamento comparado ao peso inicial. O ganho do grupo O/O5 foi de 47% nas primeiras 8 semanas e de 77% nas 4 últimas semanas comparado ao peso inicial. O grupo E/D se diferenciou do grupo S/S5 a partir da 8 semana. Porém o peso absoluto dos grupos OE/OD não se diferenciou do grupo O/O5.

Evolução do peso corpóreo dos animais				
Grupo		1 Semana	8 Semana	12 semana
E/D	Md	293,23*	378,77 <sup>&amp;</sup>	424,71
	d.p	33,07	37,44	45,44
S/S5	Md	301,15 §	423,08	440,28
	d.p	25,72	35,17	33,77
OE/OD	Md	298,08 £	430,62#	487,43¥
	d.p	28,91	44,04	54,97
O/O5	Md	302,15 **	447,08 €	535
	d.p	41,45	40,74	53,34

Tabela 2: Evolução do peso corpóreo dos animais em doze semanas. Valores expressos em gramas. E/D: Exercitado/Destreinado. S/S5: Sedentário/Sedentário 5 meses. OE/OD: Obeso Exercitado/Obeso Destreinado. O/O5: Obeso/Obeso 5 meses (n=14) Análise intra-grupo E/D x S/S5 \*p< 0,05 vs E/D 8 semana, E/D 12 Semana, S/S5 8 semana, S/S5 12 semana. & p< 0,05 vs S/S5 1 semana, S/S5 8 semana, S/S5 12 semana. § p< 0,05 vs E/D 12 semana, S/S5 8 semana, S/S5 12 semana. Análise intra-grupo OE/OD x O/O5: £ p< 0,05 vs OE/OD 8 semana, OE/OD 12 semana, O/O5 8 semana, O/O5 12 semana. # p< 0,05 vs O/O5 1 semana, O/O5 12 semana. ¥ p< 0,05 vs O/O5 1 semana. \*\* p< 0,05 vs O/O5 8 semana, O/O5 12 semana. € p< 0,05 vs O/O5 12 semana.

Na Figura 1, observa-se que a expressão de Prkaa2 foi 48% maior no grupo E quando comparado ao grupo S5. O grupo D foi 38% e 56% maior, quando comparados aos animais dos grupos sedentários S e S5 respectivamente (Fig. 1A). Na presença da obesidade, houve aumento da expressão deste gene no grupo destreinado (grupo OD), a expressão de prkaa2 está aumentada 49% e 36% quando comparado com o grupo O e O5 (Fig. 1B).

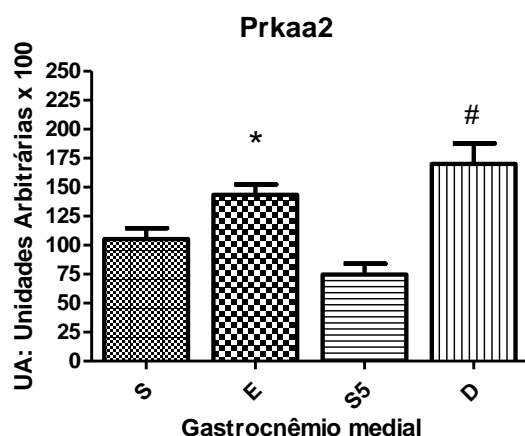


Figura 1A: Expressão gênica de Prkaa2 corrigido por Gapdh em ratos Wistar. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. S: sedentário, E: Exercitado, S5: Sedentário com 5 meses D: Destreinado. (n= 7) \* p< 0,05 vs S5. # \* p< 0,05 vs S, S5.

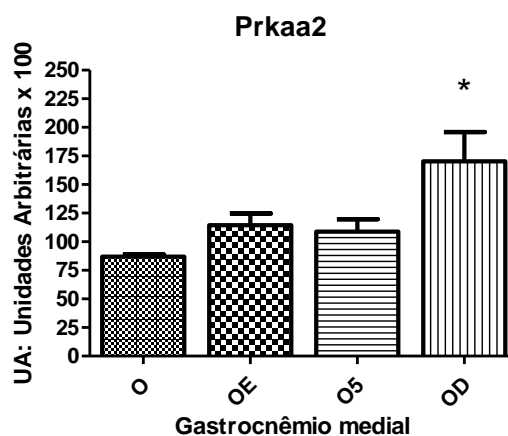


Figura 1B: Expressão gênica de Prkaa2 corrigido por Gapdh em ratos Wistar induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. O: obeso, OE: Obeso Exercitado, O5: Obeso com 5 meses, OD: Obeso Destreinado. (n= 7) \* p< 0,05 vs O, O5.

Na Figura 2, observa-se que a expressão de Mef2a. Não foi possível observar diferença estatística nos animais com dieta padrão (Fig. 2A). Contudo, nos animais alimentados com dieta hipercalórica, verifica-se que o grupo obeso

destreinado por 4 semanas apresentou aumento da expressão deste gene em 48% e 60% em relação aos grupos O e O5 (Fig. 2B).

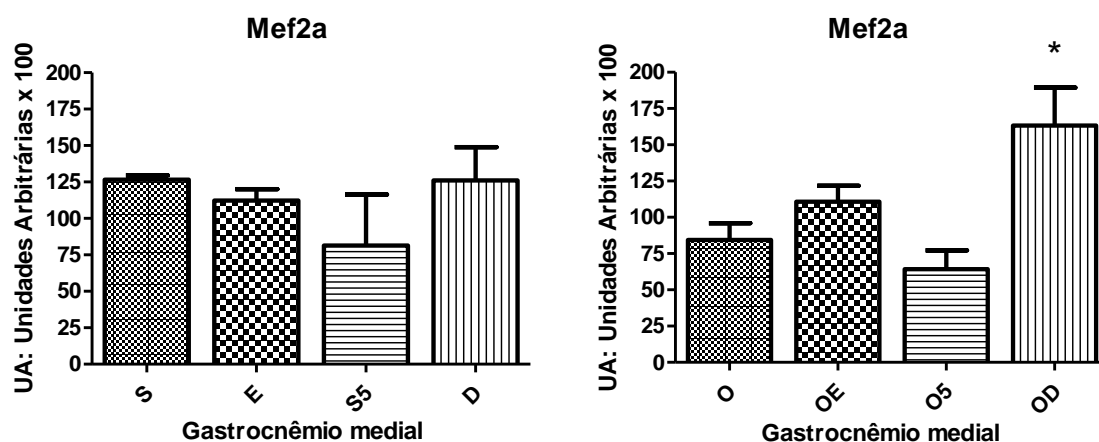


Figura 2A: Expressão gênica de Mef2a corrigido por Gapdh em ratos Wistar. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. S: Sedentário, E: Exercitado, S5 sedentário com 5 meses, D: Destreinado. (n= 7) p< 0,05.

Figura 2B: Expressão gênica de Mef2a corrigido por Gapdh em ratos Wistar induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. O: obeso, OE: Obeso Exercitado, O5: Obeso com 5 meses, OD: Obeso Destreinado (n= 7) \* p< 0,05 vs O, O5.

Na Figura 3, observa-se que a expressão de Slc2a4 foi maior nos grupos que sofreram destreinamento independente da dieta ofertada. O grupo D apresentou aumento de 43% e 46% quando comparados aos animais sedentários S e S5, respectivamente (Fig. 3A). O grupo OD apresentou um incremento de 52% quando comparado ao grupo O. (Fig. 3B).

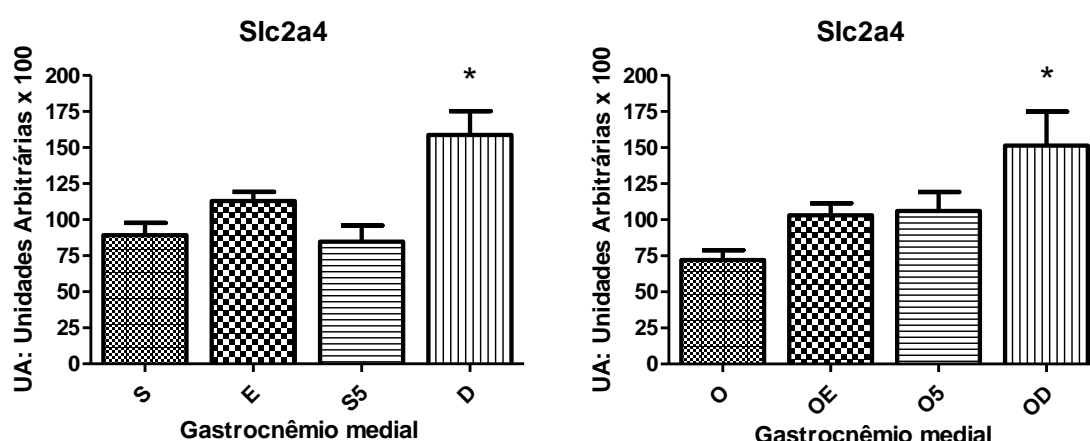


Figura 3A: Expressão gênica de Slc2a4 corrigido por Gapdh em ratos Wistar. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. S: Sedentário, E: Exercitado, S5: sedentário com 5 meses, D: Destreinado. (n= 7) \* p< 0,05 vs S, S5.

Figura 3B: Expressão gênica de Slc2a4 corrigido por Gapdh em ratos Wistar induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. O: Obeso, OE: Obeso Exercitado, O5: Obeso com 5 meses, OD: Obeso Destreinado. (n= 7) \* p< 0,05 vs O.

A Figura 4 apresenta a expressão de Ppargc1a. Nos animais que receberam alimentação com ração padrão para roedores não foi possível observar diferença estatística (Fig. 4A). Por outro lado, na presença da obesidade, verificou-se que o grupo Destreinado sofreu redução de 58% e 48% frente os grupos OE e O5 respectivamente (Fig. 4B).

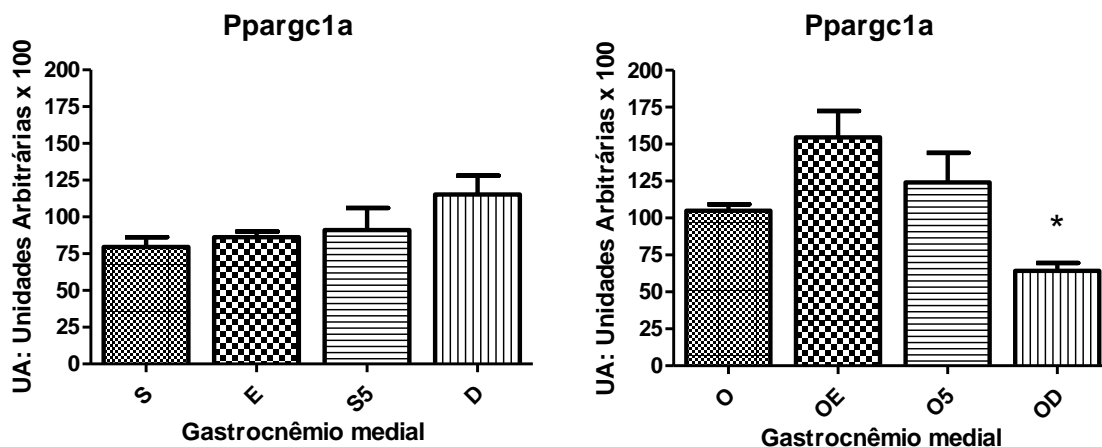


Figura 4A: Expressão gênica de Ppargc1a corrigido por Gapdh em ratos Wistar. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. S: sedentário, E: exercitado, S5: Sedentário com 5 meses, D: Destreinado. (n= 7) p< 0,05.

Figura 4B: Expressão gênica de Ppargc1a corrigido por Gapdh em ratos Wistar induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica. Valores expressos em unidades arbitrárias com média e desvio padrão. O: obeso, OE: Obeso Exercitado, O5: Obeso com 5 meses, OD: Obeso Destreinado. (n= 7) \* p< 0,05 vs OE, O5.

## Discussão

Sendo o exercício físico uma prática de baixo custo e fácil acessibilidade contra o balanço energético positivo, alterações metabólicas e diversas patologias, ele se torna uma ferramenta importante e útil para toda a população. No presente estudo, além de investigarmos o efeito do treinamento físico sobre diversos genes relacionados à demanda energética na musculatura esquelética de ratos Wistar obesos, também destacamos o efeito de destreinamento de 4 semanas sobre esta expressão, com o objetivo de mimetizar o que ocorre na população humana, que inicia um treinamento e devido a diversos fatores cessa a atividade, muitas vezes não retornando ou retornando após alguns meses ao programa proposto.

A grande maioria dos estudos se concentra em mostrar o efeito do treinamento físico em indivíduos já obesos, assim, o diferencial deste estudo é verificar a eficiência do treinamento e do destreinamento sobre variáveis como o peso e a expressão gênica em ratos que praticam exercício físico regular e recebe a dieta simultaneamente (3,6). Ao analisar a Tabela 2 fica evidente que a dieta hiperlipídica promoveu um maior ganho de peso ao longo do estudo nos animais dos grupos Obeso e Obeso de 5 meses e subsequentemente dos grupos Obeso Exercitado e Obeso destreinado, destacando assim a eficiência da dieta na promoção do ganho de peso (24). Possibilitando a constatação que o grupo que só se alimentou de dieta hiperlipídica e que nunca treinou foi o que apresentou maior incremento de massa corpórea.

Sendo a AMPK uma proteína fundamental no processo metabólico e desempenhando um papel fundamental na  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos e na regulação da sensibilidade a insulina (28), tem sua expressão genica controlada pelo gene Prkaa2. Quando se observa a figura 1, o valor da expressão do gene citado acima é possível notar que ratos que receberam dieta padrão, treinados em protocolos de saltos verticais em alta intensidade, seja em período de treinamento ou destreinamento, diferenciam-se de seus equivalentes que não passaram pelo treinamento (S e S5). Em animais induzidos à obesidade por dieta hiperlipídica, quando avaliado a mesma expressão gênica é possível observar um comprometimento do mesmo durante o treinamento, porém no período de destreinamento, os ratos apresentam diferença frente aos animais que jamais sofreram algum tipo de estresse mecânico. Os dados sugerem um prejuízo na expressão de Prkaa2 pela exposição à dieta hiperlipídica, evidenciando que a dieta rica em gordura saturada induz resistência à insulina, porém o fator exercício foi capaz de potencializar a expressão gênica em períodos de destreinamento. Fato explicável, pois em períodos de jejum e pós- treinamento, o músculo esquelético modifica suas fontes de energia para preservar o glicogênio e os níveis de glicose sanguínea, visto que as células musculares são capazes de identificar a disponibilidade de glicose e transformar esta informação em adaptações metabólicas, sendo o AMPK o principal sensor atuante e tradutor desta informação (3).

O exercício ao estimular a AMPK, estimula a via de excitação do potenciador do transportador de glicose tipo 4 (Glut 4) excitando o fator potenciador de miócitos (Mef2a) como apontado pela literatura, (12, 40) devido à maior acessibilidade do fator de transcrição aos sítios de ligação, sendo o exercício o perturbador do complexo Mef/HDAC5 causando exportação nuclear da deacetilase (19). Observada uma relação funcional entre AMPK e HDAC5, in vivo, também se observou aumento da atividade de AMPK associado ao tratamento com AICAR, reduzindo HDAC na região de ligação Mef2 sobre o promotor de Glut4 (9). Embora no presente estudo, não tenha sido feita investigação sobre a ligação de HDAC5 e Mef, parece que isto não ocorreu nos nossos animais, como pode ser observado na figura 2A, onde o exercício aparentemente não foi capaz de influenciar a expressão do Mef2a. Na figura 2B, pode-se observar um incremento na expressão de Mef2a no grupo obeso destreinado. Estes resultados estão em desacordo com os encontrados por Mootha et al. de 2003 e Patti et al. de 2003, sugerindo que o protocolo de treinamento foi eficiente em manter a expressão genica do Mef2a elevada mesmo após 4 semanas de interrupção do protocolo de treinamentos resistidos.

A expressão do gene *Slc2a4*, que codifica a proteína GLUT4, como encontrado na literatura (25, 35, 12), aumentou no músculo dos animais submetidos ao treinamento, entretanto as diferenças foram encontradas apenas nos animais que passaram pelo processo de destreinamento, independente da presença da obesidade, vindo a confrontar a ideia de que a interrupção do treinamento tende a ser acompanhada por uma redução na expressão de proteínas chave da cascata de sinalização da insulina, bem como na concentração de GLUT4 (15).

Evidentemente ao observar o exposto, deve-se considerar que os resultados aqui encontrados para quantidade de RNAm podem não refletir diretamente no conteúdo de proteína GLUT4 no músculo estudado (36). O aumento da captação de glicose verificado após o exercício é, em parte, devido à maior atividade e expressão de proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina, bem como devido ao aumento do conteúdo e da translocação do GLUT4 no tecido muscular esquelético (8,41). Como observado no estudo, os

animais apresentam níveis mais elevados de Slc2a4 após 4 semanas de inatividade física, o que sugere uma supercompensação como observado na figura 3, onde os grupos destreinado e obeso destreinado apresentaram uma maior expressão do gene Slc2a4, resultado similar foi encontrado por Barre's e colaboradores recentemente (2012) que demonstraram que o exercício é capaz de promover metilação no músculo esquelético de humanos, genes responsivos ao exercício se mostraram menos metilados de maneira dose resposta, em especial o PGC-1alfa, no qual apresentou uma redução na metilação e, posteriormente, um grande aumento na expressão gênica.

Visto que o treinamento de força e de resistência ativam distintas vias energéticas e o resultado são adaptações específicas no músculo esquelético e a capacidade do músculo se adaptar depende diretamente da seção transversal e do tipo de fibras recrutadas (30). As adaptações das fibras musculares ocorrem mediante o treinamento e recrutamento de neurônios motores que se invaginam e enervam fibras do tipo IIB e IIX que por sua vez iniciam contrações do músculo esquelético através de vias de sinalização de cálcio. A via do cálcio é uma importante via de ativação de fatores de transcrição como a AMPK, Mef2, membros do fator nuclear (NFAT) de células ativadas que alteram a expressão de genes regulados pelo exercício muscular, em particular, o coativador do receptor ativado pelo Coativador 1- Alfa do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma (Ppargc1a) que é o responsável pela expressão genica do PGC1A (33, 32, 11, 20). Na figura 4A, aparentemente o organismo não foi capaz de influenciar a expressão do gene Ppargc1a, que codifica a proteína PGC1a. Já na figura 4B é possível observar que a dieta hiperlipídica foi capaz de influenciar negativamente a expressão gênica de Ppargc1a em ratos destreinados. Fato explicável pela possibilidade de interação entre gene e nutriente, descrevendo a modulação dos efeitos dos componentes dietéticos em um fenótipo específico associado a um polimorfismo genético (24) como a fissão mitocondrial, promovendo uma deficiência respiratória, e doenças sistêmicas como o câncer, doenças cardiovasculares, neurodegeneração e diabetes. (28)

## **Conclusão**

O treinamento com pesos foi capaz de modular positivamente a expressão gênica de Prkaa2, Mef2a e Slc2a4 em ratos Wistar induzidos ou não a obesidade mesmo em período de destreinamento, sugerindo assim que, após um treinamento crônico periodizado exista um período de super compensação dos genes acima citados. Porém, não pode ser observado o mesmo padrão no gene Ppargc1a, sendo a dieta ofertada aos animais mais influente que o fator de proteção ofertado pelo treinamento intermitente.

## **Agradecimentos**

Esse estudo foi suportado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES).

## **Referencias**

- 1** ARAUJO GG, PAPOTI M, GOBATTO-MANCHADO FB, MELLO MAR, GOBATTO CA. Padronização de um protocolo experimental de treinamento periodizado em natação utilizando ratos Wistar. Rev Bras Med Esporte 2010; 19: 51-6
- 2** BARRE` S, ROMAIN; YAN JIE; EGAN BRENDAN;, et al. Acute Exercise Remodels Promoter Methylation in Human Skeletal Muscle. Cell Metabolism, n.15, p.405–411, 2012
- 3** BROEDER, Ce. et al. The effects of either high-intensity resistance or endurance training on resting metabolic rate. Am J Clin Nutr., United States. Texas. v. 55. nº 4., p. 802-10.
- 4** CANTÓ, C; JIANG, L,Q; DESHMUKH,A,S; COSTE,A; LAGOUGE,M; ZIERATH,J,R; AUWERX,J. Interdependence of AMPK and SIRT1for Metabolic Adaptation to Fasting and Exercise in Skeletal Muscle Cell Metabolism 11, 213–219, March 3, 2010
- 5** DAVE JM, An LC, JEFFERY RW, AHLUWALIA, JS. Relationship of attitudes toward fast food and frequency of fast-food intake in adults. Obesity (Silver Spring). 2009;17(6):1164-70
- 6** DUARTE, A. C. G. O., et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. Rev. Nutr. 19 (3):341 –8. 2006
- 7** FERNANDEZ, A. C. et al. Influência do treinamento aeróbio e anaeróbio na massa de gordura corporal de adolescentes obesos. Rev Bras Med Esporte, v. 10, nº 3, mai/jun, 2004.



- 8** FROSIG, C. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*, v. 56, n. 8, p. 2093-102, 2007.
- 9** GONG, H; JIN XIE, J; ZHANG, N; YAO, L; ZHANG, Y; Glut4 Promoter Occurs via an AMPKa2-Dependent Mechanism. *Official Journal of the American College of Sports Medicine* 2011.
- 10** GUEDES, D; JUNIOR, T; ROCHA, A. *Treinamento personalizado em musculação*. São Paulo, Phorte, 2008.
- 11** HANDISCHIN C, RHEE J, LIN J, TARR PT, SPIEGELMAN BM. An autoregulatory loop controls peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha expression in muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 7111–7116, 2003.
- 12** HOUMARD JA, SHINEBARGER MH, DOLAN PL ET AL. (1993) Exercise training increases GLUT-4 protein concentration in previously sedentary middle-aged men. *Am J Physiol* 264:E896–E901
- 13** HOUMARD, JA; HICKEY, M.S; TYNDALL, G.L; GAVIN, K.E; DOHM, G.L. Seven days of exercise increase GLUT4 protein content in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1995;79:1936–8.
- 14** JUNIOR, T.G; SCHUTZ, H; CHAPPELL, M.A; KEENEY, B.K; MEEK, T.H; COPES, L.E; ACOSTA, W; DRENOWATZ, C; MACIEL, R.C; DIJK, G.V; KOTZ, C.M. EISENMANN, J.C. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *The Journal of experimental Biology* 2011; 214: 206-229.
- 15** KUMP, D.S; BOOTH, F.W. Alterations in insulin receptor signalling in the rat epitrochlearis muscle upon cessation of voluntary exercise. *J Physiol*, v. 562, n. Pt 3, p. 829-838, 2005.
- 16** LÉGER, B. Human sarcopenia reveals an increase in SOCS –3 and myostatin and a reduced efficiency of AKT phosphorylation. *Rejuvenation Res*. 11:163B –75B. 2008
- 17** MACHADO, U.F; SCHANN, B.A; SERAPHIM, P.M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. vol. 50. Nº 2. abr. 2006.
- 18** MANCHADO, F.B; GOBATTO, C.A; CONTARTEZE, R.V.L; PAPOTI, M; ROSTOM de MELLO, M.A. Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos *Rev Bras Med Esporte* Vol. 12, Nº 5 – Set/Out, 2006.

- 19** McGEE, S.L.; HARGREAVES, M. Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle. *Diabetes*. 2004;53:1208–14.
- 20** MICHAEL, L.F, WU, Z; CHEATHAM, R.B; PUIGSERVER, P; ADELMANT G; LEHMAN, J.J; KELLY, D.P; SPIEGELMAN, B.M; Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator PGC-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 3820– 3825, 2001.
- 21** MONTEIRO, C.A; LEVY, R.B; CLARO, R.M; CASTRO, I.R; CANNON, G. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad Saude Publica*. 2010;26(11):2039-49.
- 22** MOOTHA, V.K; LINDGREN, C.M; ERIKSSON, K.-F; SUBRAMANIAN, A. S; SIHAG, J; EHAR, P; PUIGSERVER, E; CARLSSON, M; RIDDERSTRALE, E. PGC-1 $\alpha$ -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes *Nat. Genet.*, 34 (2003), pp. 267–273
- 23** “OBESITY AND OVERWEIGHT,” WHO Report No.: fact sheet no 311, 2012, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.
- 24** ORDOVAS, J. M; Genotype-Phenotype Associations: Modulation by Diet and Obesity. *Obesity*, v. 16, sup. 3, p. S40-S46, Dec. 2008
- 25** OLSHANSKY, S.J; PASSARO, D.J; HERSHOW, R.CI. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med*, n.352, p.1138-1145, 2005.
- 26** PANVELOSKI-COSTA AC, PINTO JÚNIOR DA, BRANDÃO BB, MOREIRA RJ, MACHADO UF, SERAPHIM PM. Resistive training reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity in obese rats induced by hyperlipidic diet. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2011; 55(2):155-63.
- 27** PATTI, M.E; BUTTE, A.J; CUSI S.K,; BERRIA R; KASHYAP S; MIYAZAKI Y; KOHANE I; COSTELLO M; SACCONI R; Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: potential role of PGC1 and NRF1 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (2003), pp. 8466–8471
- 28** PAULI, J.R; ROPELLE, E.R; CINTRA, D,E; SOUZA,C.T. Efeitos do Exercício Físico na Expressão e Atividade da AMPK $\alpha$  em Ratos Obesos Induzidos por Dieta Rica em Gordura *Rev Bras Med Esporte – Vol. 15, No 2 – Mar/Abr, 2009*
- 29** PATTERSON. C; LEVIN. B. Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. *Neuroendocrinology*. 2008;87(2):65-70

- 30** PETTE, D. Historical perspectives: plasticity of mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 90, 1119–1124 (2001)
- 31** PICARD. M; Doug. M. Turnbull Linking the Metabolic State and Mitochondrial DNA in Chronic Disease, Health, and Aging *DIABETES*, VOL. 62, MARCH 2013
- 32** POLEGAARD, H; SALTIN, B; NEUFER, P.D; Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 $\alpha$  gene in human skeletal muscle. *J. Physiol.* 546, 851–858 (2003).
- 33** PUIGSERVER, P. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92, 829–839 (1998).
- 34** REZAIMANESH, D; AMIRI-FARSANI, P; SAIDIAN, S The effect of a 4 week plyometric training period on lower body muscle EMG changes in futsal players *Procedia Social and Behavioral Sciences* 15 (2011) 3138–3142.
- 35** ROSE AJ; RICHTER EA. Skeletal Muscle Glucose Uptake During Exercise: How is it Regulate? *Physiology*, 2005; 20:260-270.
- 36** SERAPHIM, P. M; NUNES, M. T; GIANOCCO, G; MACHADO, U.F. Age related obesity-induced shortening of GLUT4 mRNA poly(A) tail length in rat gastrocnemius skeletal muscle. *Molecular and Cellular Endocrinology (Print)*, v. 276, p. 80-87, 2007.
- 37** SMITH, J.A; COLLINS, M. GROBLER, L.A; MAGEE, C.J; OJUKA, E.O. Exercise and CaMK activation both increase the binding of MEF2A to the Glut4 promoter in skeletal muscle in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E413–20.
- 38** TAMAKI. T; UCHIYAMA. S; NAKANO. S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1992; 24(8):881-6
- 39** TAMAKI. T; AKATSUKA. A; TOKUNAGA. M; ISHIGE. K; UCHIYAMA. S; SHIRAISHI. T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. . *American Journal Physiology*, v. 273, p.11, 1997
- 40** TERADA. S; YOKOZEKI. T; KAWANAKA. K. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2001;90(6):2019–24.
- 41** TORRES-LEAL, F. L. The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. *Cell Biochem Funct*, v. 28, n. 8, p. 623-31, 2010

**42** WU. H; ROTHERMEL. B; KANATOUS. S. Activation of MEF2 by muscle activity is mediated through a calcineurin-dependent pathway. *EMBO J.* 2001;20:6414–23.

## **CONCLUSÃO GERAL**

---

O treinamento de saltos em ratos Wistar parece ser uma forma eficaz de induzir a acidose em animais com ou sem obesidade. Porém estímulos crônicos periodizados com cargas progressivas ou equivalentes a 50% do peso corporal, ajustadas semanalmente, apresentaram declínio ao longo de 08 semanas, resultados observados na análise de área total ou apenas do limiar anaeróbio da cinética do lactato nos grupos exercitados no presente estudo, podendo assim comprometer protocolos mais longos devido a adaptações metabólicas. Assim, pode-se sugerir que ao se utilizar de protocolo de saltos em ratos Wistar, é importante que seja aplicado um incremento mínimo de carga de 10% a cada ciclo.

Sendo o treinamento com pesos com carga progressiva capaz de modular positivamente a expressão gênica de *Prkaa2*, *Mef2a* e *Slc2a4* em ratos Wistar induzidos ou não a obesidade mesmo em período de destreinamento, sugerindo assim que, após um treinamento crônico periodizado exista um período de supercompensação dos genes acima citados. Porém, não pode ser observado o mesmo padrão no gene *Ppargc1a*, sendo a dieta ofertada aos animais mais influente que o fator de proteção ofertado pelo treinamento intermitente.

## **REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO**

---

- ANDERSSON, U, and SCAPULLA, R.C. (2001). Pgc-1-related coactivator, a novel, serum-inducible coactivator of nuclear respiratory factor 1-dependent transcription in mammalian cells. *Mol. Cell. Biol.* 21, 3738–3749.
- BALTZER, C., TIEFENBÖCK, S.K., and FREI, C. (2010). Mitochondria in response to nutrients and nutrient-sensitive pathways. *Mitochondrion* 10, 589–597.
- BARBANTI, V. J. Teoria e prática do treinamento esportivo. 2 ed. São Paulo: Edgar Blucher 1997.
- BASTARD, J. P., *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* Vol. 17.Nº1. March, 4 –12. 2006.
- BRAGA, L.R.; MELLO, M.A.R.; GOBATTO, C.A. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e do destreinamento sobre a gordura corporal de ratos obesos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 54, n. 1, p. 58-65, 2004.
- BRAGA, L.R.; MELLO, M.A.R.; MANCHADO, F.B.; GOBATTO, C.A. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e destreinamento sobre o peso corporal e metabolismo muscular de ratos obesos. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*, v.6, p.160-169, 2006.
- CALVO, S.E., PAGLIARINI, D.J., and MOOTHA, V.K. (2009). Upstream open Reading frames cause widespread reduction of protein expression and are polymorphic among humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 7507–7512.



- CARVALHO, M. *et al.* Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab.* v.50, Nº 2, Abr, 2006.
- CHOI.K , KIM.Y-B. molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med.* 2010; 25 (2):119-29.
- DANDONA, P., *et al.* Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25: 4 –7.2004.
- DUARTE, A. C. G. O., *et al.* Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev. Nutr.* 19 (3):341 –8. 2006.
- DiMAUOR, S., and SCHON, E.A. (2003). Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N. Engl. J. Med.* 348, 2656–2668.
- GOLDENTHAL, M.J., and MARI´n-GARCI´A, J. (2004). Mitochondrial signaling pathways: a receiver/integrator organelle. *Mol. Cell. Biochem.* 262, 1–16.
- GOODYEAR, L. J. & KAHN, B. B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med*, n.49, p. 235-261, 1998.
- GREENHILL, C. J., *et al.* IL –6 signaling modulates TLR –4 dependent inflammatory responses via STAT3. *J. Immunol.* 186 (2):1199 –208. 2011.
- HARDIE, D.G.; SAKAMOTO K. AMPK: A Key Sensor of Fuel and Energy Status in Skeletal Muscle.” *Physiology* 2005; **21**: 48–60.
- HOCK, M.B., and KRALLI, A. (2009). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. *Annu. Rev. Physiol.* 71, 177–203.
- HOTAMISLIGIL, G. S., *et al.* Adipose expression of tumor necrosis fator – alpha: direct role in obesity – linked insulin resistance. *Science.* 259: 87 – 91. 1993.

- HOTAMISLIGIL, G. S., *et al.* Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 95: 2409 –15. 1995.
- HOTAMISLIGIL, G. S. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes*. Vol. 54. Suppl.2. s73 –s78. 2005.
- JUNIOR, T.G., SCHUTZ, H., CHAPPELL, M.A., KEENEY, B.K., MEEK, T.H., COPES, L.E., ACOSTA, W., DRENOWATZ, C., MACIEL, R.C., DIJK, G.V., KOTZ, C.M. EISENMANN, J.C. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *The Journal of experimental Biology* 2011; 214: 206-229.
- KERN, P. A., *et al.* The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J. Clin. Invest.* 95: 2111 –9. 1995.
- KRESSLER, D., SCHREIBER, S.N., KNUTTI, D., and KRALLI, A. (2002). The PGC-1-related protein PERC is a selective coactivator of estrogen receptor  $\alpha$ . *J. Biol. Chem.* 277, 13918–13925.
- LÉGER, B., *et al.* Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of AKT phosphorylation. *Rejuvenation Res.* 11:163B –75B. 2008.
- LIANG, H.; BALAS, B.; TANTIWONG, P.; DUBE, P.; O'DOHERTY, R. M.; DeFRONZO, R. A.; RICHARDSON, A.; MUSI, N.; WARD, W. F.. Whole body overexpression of PGC-1 $\alpha$  has opposite effects on hepatic and muscle insulin sensitivity. *American Journal of Physiology* -

Endocrinology and Metabolism Published 1 April 2009 Vol. 296no.E945-  
E954DOI: 10.1152/ajpendo.90292.2008

- LIN J, Wu H, Tarr PT, Zhang CY, Wu Z, Boss O, Michael LF, Puigserver P, Isotani E, Olson PT, Lowell BB, Bassel-Duby R, e Spiegelman BM. transcricional co-ativador PGC-1 alfa impulsiona a formação de fibras de contração lenta musculares. *Nature* 418:. 797-801, 2002
- LIN J, WU PH, TARR PT, LINDENBERG KS, St PIERRE J, ZHANG CY, MOOTHA VK, JAGER S, VIANNA CR, RM REZNICK, L CUI, MANIERI M, DONOVAN MX, WU Z, COOPER MP, MC FAN, ROHAS LM., ZAVACKI AM, CINTI S, SHULMAN GI, LOWELLI BB, KRAINIC D, e SPEIGELMAN BM Defeitos no metabolismo de energia adaptativa com hiperatividade CNS-ligado em camundongos PGC-1alfa nulos. *Cell* 119: 121-135., 2004
- LOWELL, B.B., and SHULMAN, G.I. (2005). Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 307, 384–387.
- LUCIANO, E., CARNEIRO, E. M., CARVALHO, C. R., CARVALHEIRA, J. B., PERES, S. B., REIS, M. A., SAAD, M. J., BOSCHERO, A. C. & VELLOSO, L. A.. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *Eur J Endocrinol*, n.147, p. 149-157, 2002.
- MACHADO, U.F. SCHANN, B.A, SERAPHIM,PM. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* vol. 50. Nº 2. abr. 2006.

- MacLEAN, P.S., Zheng D., JONES J.P., OLSON A.L., DOHM G.L. Exercise-Induced Transcription of the Muscle Glucose Transporter (GLUT 4) Gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 292:409–414.
- MICK, D.U., FOX, T.D., and REHLINGg, P. (2011). Inventory control: cytochrome c oxidase assembly regulates mitochondrial translation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 12, 14–20.
- MIYAMOTO, L., TOYODA, T., HAYASHI, T., et. al. Effect of acute activation of 5'-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007; 102:1007-1013.
- MONTEIRO, C.A; LEVY, R.B; CLARO, R.M; CASTRO, I.R; CANNON, G. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad Saude Publica.* 2010;26(11):2039-49.
- MOOTHA, V.K., LINDGREN, C.M., ERIKSSON, K.F., SUBRAMANIAN, A., SIHAG, S., LEHAR, J, PUIGSERVER, P., CARLSSON, E., RIDDERSTRÅM, M., LAURILA, E., et al. (2003b). PGC-1α-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat. Genet.* 34, 267–273.
- MOKDAD, A. H., et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity – related health risk factors, 2001. *Jama.* 289: 76 –9. 2003.
- MORTENSEN OH, FRANDBEN L, SCHJERLING P, E NISHIMURA, e GRUNNET N. PGC-1α e PGC-1β têm efeitos semelhantes e distintas sobre células musculares de comutação para um fenótipo oxidativo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: E807-E816, de 2006.

- O'DONOVAN, G., KEARNEY, E. M., NEVILL, A. M., WOOLF-MAY, K. & BIRD, S. R. The effects of 24 weeks of moderate- or high-intensity exercise on insulin resistance. *Eur J Appl Physiol*, n.95, p.522-528, 2005.
- OLIVEIRA, CN et. al. Obesidade Abdominal associada à fatores de risco à saúde em adultos. *Saúde & Ambiente em Revista*, v.3, n.1, p. 34-43, 2008.
- PAGLIARINI, D.J., CALVO, S.E., CHANG, B., SHETH, S.A., VAFAI, S.B., ONG, S.E., WALFORD, G.A., SUGIANA, C., BONEH, A., CHEN, W.K., et al. (2008). A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology. *Cell* 134, 112–123.
- PATTERSON.C ; LEVIN.B, Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. *Neuroendocrinology*. 2008;87(2):65-70.
- PERES, S. B., DE MORAES, S. M., COSTA, C. E., BRITO, L. C., TAKADA, J., ANDREOTTI, S., MACHADO, M. A., ALONSO-VALE, M. I., BORGES-SILVA, C. N. & LIMA, F. B. Endurance exercise training increases insulin responsiveness in isolated adipocytes through IRS/PI3-kinase/Akt pathway. *J Appl Physiol*, n.98, p.1037-1043, 2005.
- PUIGSERVER, P., WU, Z., PARK, C.W., GRAVES, R., WRIGT, M., and SPIEGELMAN, B.M. (1998). A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92, 829–839.
- RODNICK, K. J., HASKELL, W. L., SWISLOCKI, A. L., FOLEY, J. E. & REAVEN, G. M. Improved insulin action in muscle, liver, and adipose tissue in physically trained human subjects. *Am J Physiol*, n.253, p.489-495, 1987.

- ROPELLE,E.R., PAULI,J.R., PRADA,P.O., DE SOUZA,C.T, PICARDI. PK., FARIA .M.C et al. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. *J Physiol.* 2006; 15;577(3):997-1007
- SASAOKA,T; WADA,T; TSUNEKI,H; Lipid phosphatase as a possible therapeutic target in cases of tipo 2 diabetes and obesity. *Pharmacol Ther* 2006; 112(3):799-809
- SCARPULLA,R.C. (2008). Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol. Rev.* 88, 611–638.
- SCHIMIDT, O, PFANNER, N., and MEISINGER, C. (2010). Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11, 655–667.
- TALANIAN, J. L., *et al.* Two weeks of high –intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J Appl Physiol.* 102: 1439 –47.2007.
- TANIGUCHI, C.M; EMANUELLI, B; KAH, C.R. Critical nodes in signaling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7:85-96
- TERRAN-GARCIA, M., RANKINEN, T., KOZA, R. A., RAO, D. C. & BOUCHARD, C. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, n.288, p.1168-1178, 2005.
- VALERIO, A., TNF –alpha downregulates iNOS expression. And mitochondrial biogenesis in fat and muscles of obese rodents.*J Clin Invest.* 116 (10): 2791 –8. 2006.

- WALLACE, D.C. (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* 39, 359–407.
- YOULE, R.J., and NARENDRA, D.P. (2011). Mechanisms of mitophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 12, 9–14.
- ZIMMET, P., *et al.* Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature.* 6865: 782 –7.2001.