

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DO  
DESTREINAMENTO NA INFLAMAÇÃO E EXPRESSÃO  
DE GENES DO METABOLISMO MUSCULAR  
ESQUELÉTICO E DO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS  
ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

**MARCELO CONRADO DE FREITAS**

**Presidente Prudente  
2016**

**MARCELO CONRADO DE FREITAS**

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DO  
DESTREINAMENTO NA INFLAMAÇÃO E EXPRESSÃO  
DE GENES DO METABOLISMO MUSCULAR  
ESQUELÉTICO E DO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS  
ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

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.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patricia Monteiro Seraphim**

Presidente Prudente

2016

## FICHA CATALOGRÁFICA

Freitas, Marcelo Conrado.

Efeitos do treinamento resistido e do destreinoamento na inflamação e expressão de genes do metabolismo muscular e do tecido adiposo de ratos alimentados por dieta hiperlipídica. - Presidente Prudente : [s.n], 2016

53 f. :il.

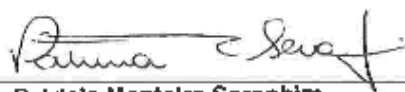
Orientador: Patrícia Monteiro Seraphim

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia

Inclui bibliografia

1. Treinamento resistido. 2. Inflamação. 3. Destreinoamento. I. Seraphim, Patrícia Monteiro. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III. Efeitos do treinamento resistido e do destreinoamento na inflamação e expressão de genes do metabolismo muscular e do tecido adiposo de ratos alimentados por dieta hiperlipídica.

**BANCA EXAMINADORA**




**Prof. Dra. Patrícia Montelro Seraphim**  
(ORIENTADORA)



**Prof. Dra. GIOVANA RAMPAZZO TEIXEIRA**  
(ECT/UNESP)



**Pós-doutorado Ermelindo Carreira Leal**  
(UNIVERSIDADE DE COIMBRA/PORTUGAL)



**MARCELO CONRADO DE FREITAS**

PRESIDENTE PRUDENTE, 16 DE FEVEREIRO DE 2016.

**RESULTADO: APROVADO.**

*Aos meus pais Agostinho e Dulcélia, minha esposa Camila e filha Maria Eduarda que estiveram ao meu lado tanto nos momentos de alegria como nos momentos difíceis, e por me apoiarem e serem meu alicerce para a concretização deste sonho na minha vida.*

---

## *Agradecimentos*

*Agradeço ao meu Deus por me proporcionar esta vitória, por me capacitar e ser minha força para realização de tudo que faço no minha vida.*

*Agradeço a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Monteiro Seraphim, por confiar em mim e por me proporcionar uma das maiores oportunidades da minha vida, obrigado pela orientação e aprendizado que foram essenciais para minha formação acadêmica e profissional. Foi um privilégio partilhar estes momentos e que nossa amizade perpetue por muito tempo.*

*Agradeço a minha família, aos meus pais Agostinho e Dulcélia pela educação e empenho na minha formação. Ao meu irmão Maikon por todo apoio. A minha esposa Camila que sem a sua ajuda jamais concretizaria este sonho. A minha sogra Meire, meus avós João Zanini e Célia Magalhães por me ajudarem e apoiarem nos momentos mais difíceis da minha vida.*

*Agradeço a Profª Drª. Giovana Rampazzo, Profª Drª. Maria Tereza Nunes e Prof. Dr. José Silva Camargo Filho pela colaboração e disponibilização de seu laboratório para a realização de algumas etapas deste trabalho.*

*Agradeço aos meus companheiros de laboratório do grupo de pesquisa em Fisiologia (QPFIS), Thais Batista Dutra, Armando Ribeiro Florido Neto, Lucas Agostini e Ana Caroline Rippi Moreno. Obrigado pela convivência e ensinamentos.*

*Agradeço imensamente a todos que colaboraram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho. Muito Obrigado!*



---

*Epigrafe*

*O Senhor é o Deus eterno, Ele criou o mundo inteiro. Ele não se cansa, ninguém pode medir sua sabedoria. Aos cansados ele dá novas forças e enche de alegria os fracos. Até os jovens se cansam e os moços tropeçam e caem. Mas os que confiam no Senhor recebem sempre novas forças. Voam nas alturas como Águia, correm e não perdem as forças, andam e não se cansam.*

*Isaias 40: 27-31.*

---

*Sumário*

## Sumário

RESUMO DO PROJETO .....	15
ABSTRACT .....	17
INTRODUÇÃO.....	19
ARTIGO 1.....	22
O TREINAMENTO RESISTIDO REDUZ A INFLAMAÇÃO NO MÚSCULO ESQUELÉTICO O QUE É MANTIDO APÓS UM MÊS DA CESSAÇÃO DO TREINAMENTO EM RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA .....	22
ARTIGO 2.....	40
DESTREINAMENTO DE 4 SEMANAS NÃO REVERTE OS EFEITOS POSITIVOS INDUZIDOS POR TREINAMENTO RESISTIDO NO TECIDO ADIPOSEO VISCERAL DE RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA.....	40

---

## ***Apresentação***

## **APRESENTAÇÃO**

Este modelo de Dissertação é referente à pesquisa intitulada em: **“EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DO DESTREINAMENTO NA INFLAMAÇÃO E EXPRESSÃO DE GENES DO METABOLISMO MUSCULAR ESQUELÉTICO E DO TECIDO ADIPOSE DE RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA”** realizada no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFIS) da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, câmpus Presidente Prudente.

De acordo com as regras do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, a presente dissertação está dividida nas seguintes sessões:

- Resumo;

- Abstract;

- Introdução;

- Artigo 1: O TREINAMENTO RESISTIDO REDUZ INFLAMAÇÃO NO MÚSCULO ESQUELÉTICO O QUE É MANTIDO APÓS UM MÊS DA CESSAÇÃO DO TREINAMENTO EM RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA

Autores: Marcelo Conrado de Freitas, Maria Tereza Nunes, Tatiana Koike, José Carlos Silva Camargo Filho e Patrícia Monteiro Seraphim.

- Artigo 2: DESTREINAMENTO DE 4 SEMANAS NÃO REVERTE OS EFEITOS POSITIVOS INDUZIDOS POR TREINAMENTO RESISTIDO NO TECIDO ADIPOSEO VISCERAL DE RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA

Autores: Marcelo Conrado de Freitas, Willian T. Festuccia, Maria Tereza Nunes e Patrícia Monteiro Seraphim

- Conclusões: De acordo com a pesquisa realizada;

- Referências: Referentes ao texto da introdução;

---

*Resumo*

## RESUMO

**Introdução:** A ingestão de dieta hiperlipídica pode afetar negativamente o metabolismo celular de diversos tecidos podendo desencadear aumento da inflamação e resistência à insulina no tecido adiposo (TA) e músculo esquelético (ME). A realização do treinamento resistido (TR) pode resultar em adaptações importantes para indivíduos com alterações metabólicas. No entanto, ainda há poucos relatos na literatura sobre os efeitos crônicos do TR na inflamação e expressão de genes envolvidos no metabolismo do TA e ME. Também é pouco conhecido se a cessação do TR poderia causar reversão ou piora dos prováveis benefícios dos efeitos do TR sobre estes parâmetros. **Objetivos:** Analisar o efeito do TR e do destreinamento de 4 semanas sobre a inflamação e padrão de expressão de genes do metabolismo muscular e do tecido adiposo de ratos alimentados por dieta hiperlipídica. **Métodos:** Trinta ratos machos Wistar com idade de 2 meses foram subdivididos em três grupos, Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). O treinamento resistido durou 12 semanas, sendo realizado numa plataforma de salto, 3x na semana, cada sessão com 3 séries de 12 repetições, com incremento de carga a cada duas semanas. O grupo DHD interrompeu o treinamento a partir da oitava até a décima segunda semana. Foi analisada a expressão da proteína TNF $\alpha$ , a expressão gênica de AMPK, GLUT-4 e MEF2A no músculo sóleo. Já no TA periepididimal foi analisada a expressão proteica de TNF $\alpha$  e PPAR $\gamma$ , e expressão gênica de TNF $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , ACC e HIF-1 $\alpha$ , utilizando as técnicas de RT-PCR e Western blotting. **Resultados:** o TR aumentou a expressão dos genes AMPK em 23%, GLUT-4 em 24% e MEF2A em 20% ( $p < 0,05$ ) e ainda reduziu a expressão proteica em 51% e gênica em 28% de TNF $\alpha$  no ME ( $p < 0,05$ ). Já no TA o grupo DHT apresentou menor expressão gênica de TNF $\alpha$  (40%), ACC (32%) e HIF-1 $\alpha$  (31%) ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH. O grupo DHT também apresentou expressão proteica de TNF $\alpha$  40% menor e apresentou aumento de 49% na expressão proteica de PPAR $\gamma$  ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH. Com o destreinamento a expressão de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida tanto no músculo esquelético como no TA ( $p < 0,05$ ). Além disso, a expressão proteica de PPAR $\gamma$  no TA também permaneceu aumentada ( $p < 0,05$ ). **Conclusão:** O TR exerce efeitos positivos na redução da inflamação e melhora na expressão de genes relacionados ao metabolismo

celular do ME e TA, com manutenção , destas adaptações mesmo após quatro semanas de destreino.

**Palavras-Chave:** Inflamação, treinamento resistido, destreino, dieta hiperlipídica.

---

*Abstract*



## ABSTRACT

**Introduction:** High fat diet can adversely affect cellular metabolism of various tissues and trigger increased inflammation and insulin resistance in adipose tissue (AT) and skeletal muscle (SM). The resistive training (RT) may result in positive adaptations for individuals with metabolic disorders. However, there are few reports in the literature showing chronic effects of TR on the inflammation and expression of genes involved in the metabolism of the AT and SM. It is also unknown if the cessation of the resistive training could reverse or could impair the likely benefits of the RT on these gene expression. **Objectives:** To analyze the effect of TR and 4-week detraining on the inflammation and metabolism gene expression of the SM and AT from rats fed with high fat diet. **Methods:** Thirty male Wistar rats aged 2 months were divided into three groups, high fat diet (HD), High Fat Diet Trained (DHT) and Detrained High Fat Diet (DHD). Resistive training was performed during 12 weeks, in a jump platform, 3x a week, each session with 3 sets of 12 reps, with load increasing every two weeks. The DHD group interrupted the training from the eighth week until the twelfth week. TNF $\alpha$  protein expression and AMPK, GLUT4 and MEF2A gene expression was evaluated in the soleus muscle. In the periepididymal adipose tissue, PPAR $\gamma$  and TNF $\alpha$  protein expression was evaluated of, as well as TNF $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , HIF-1 $\alpha$  and ACC gene expression by RT-PCR and Western blotting. **Results:** RT increased the expression of AMPK gene in 23%, GLUT-4 in 24% and MEF2A by 20% ( $p < 0.05$ ), and reduced TNF $\alpha$  protein expression in 51% and 28% in the SM ( $p < 0.05$ ). In the AT, DHT group presented lower ( $p < 0.05$ ) TNF $\alpha$  of (40%), ACC (32%) and HIF-1 $\alpha$  (31%) gene expression compared to DH group. DHT group also showed 40% less TNF $\alpha$  protein expression and presented an increase of 49% in the PPAR $\gamma$  protein expression ( $p < 0.05$ ) compared to DH group. With the detraining TNF $\alpha$  expression remained reduced in both SM and AT ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the expression of PPAR $\gamma$  protein also remained increased in AT ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** RT has positive effects in reducing inflammation and improvement in the expression of genes related to cellular metabolism in the SM and AT, which can be maintained even after 4 weeks of the cessation.

**Keywords:** Inflammation, resistance training, detraining, high fat diet.

---

## *Introdução*

## INTRODUÇÃO

O consumo de dieta hiperlipídica vem sendo cada vez mais comum no dia-a-dia das pessoas, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de doenças como a obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e esteatose hepática (1, 2). O tecido adiposo (TA) além de promover estoque energético em forma de Triacilglicerol também pode produzir inúmeras proteínas com atividade autócrina, parácrina e endócrina (3). A oferta excessiva de nutrientes associado ao baixo gasto energético por inatividade física pode levar à expansão do TA através do incremento da lipogênese, adipogênese e consequentemente levar à hipertrofia e hiperplasia de adipócitos (4, 5).

A hipertrofia das células adiposas vem sendo considerada um grande fator para o início da inflamação sistêmica e consequentemente o surgimento de doenças metabólicas e cardiovasculares (6). Os mecanismos que explicam esta relação vêm sendo explorados na literatura, o aumento dos adipócitos leva à obstrução mecânica dos vasos sanguíneos e consequentemente diminuição no aporte de oxigênio gerando uma condição de hipóxia e consequentemente produção exacerbada de proteínas inflamatórias (7), as quais podem provocar quadro de resistência à insulina e aumento da lipólise, induzindo o extravazamento de proteínas inflamatórias e ácidos graxos para a circulação sistêmica, podendo afetar outros tecidos como o fígado e músculo esquelético (8).

O músculo esquelético representa um componente fundamental no controle glicêmico, alterações metabólicas neste tecido são cruciais para a gênese do Diabetes tipo 2 (9). O aumento da sinalização do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) na célula muscular pode gerar produção de mais proteínas inflamatórias e quadro de resistência à insulina (10). Assim, o excesso de gordura corporal e ingestão elevada de gorduras saturadas podem ser prejudiciais à funcionalidade celular tanto do TA como no músculo esquelético, com ambos apresentando participação importante na gênese de estado de resistência à insulina, sendo necessária a busca de intervenções que neutralizem este prejuízo metabólico.

A realização do treinamento resistido (TR) pode gerar adaptações importantes para o tratamento de indivíduos que apresentam doenças metabólicas, dentre elas podemos destacar o aumento da massa muscular, melhora da sensibilidade à insulina, capacidade em oxidar ácidos graxos, manutenção ou aumento do gasto energético em repouso e redução da gordura corporal (11-13). Entretanto, agudamente o TR pode

aumentar a produção de proteínas inflamatórias no músculo esquelético (14, 15). Portanto, a investigação do efeito do TR em longo prazo é fundamental para esclarecer seus efeitos na expressão de proteínas inflamatórias em estado de obesidade e ingestão de dieta hiperlipídica.

Outro aspecto importante que deve ser analisado é a interrupção do treinamento, como condição frequentemente adotada por praticantes de exercício físico. A literatura mostra que o destreinamento conduz à reversibilidade das adaptações adquiridas (16, 17). No músculo esquelético o destreinamento pode provocar redução na capacidade de gerar força e tamanho da fibra muscular (16). Já no TA a cessação do treinamento aumenta a formação de novas células adiposas (adipogênese) e capacidade das células em armazenar triacilglicerol acelerando a expansão do TA (18, 19). Este ganho de gordura pode ser crucial para desencadear uma resposta inflamatória e assim prejudicar a funcionalidade metabólica do tecido.

Portanto, o objetivo do estudo é analisar os efeitos do TR e do destreinamento sobre a inflamação e expressão de genes do metabolismo muscular esquelético e do TA de ratos alimentados por dieta hiperlipídica.

---

*Artigo 1*

# O TREINAMENTO RESISTIDO REDUZ INFLAMAÇÃO NO MÚSCULO ESQUELÉTICO O QUE É MANTIDO APÓS UM MÊS DA CESSAÇÃO DO TREINAMENTO EM RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA

**Freitas MC<sup>1</sup>, Nunes MT<sup>2</sup>, Koike T<sup>1</sup>, Camargo JCS<sup>1</sup> e Seraphim PM<sup>1</sup>**

1 – Departamento de Fisioterapia, FCT – UNESP Presidente Prudente – SP

2 – Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo (USP)

## **Resumo**

A ingestão de dieta hiperlipídica tem sido considerada um fator crucial na gênese da inflamação sistêmica e resistência à insulina, sendo cada vez mais frequente no cotidiano da sociedade. A realização do treinamento resistido (TR) pode ser uma ferramenta eficaz para a prevenção e o tratamento de distúrbios imunometabólicos através de adaptações fisiológicas e morfológicas. Além disso, a cessação do treinamento é uma condição frequentemente adotada por praticantes podendo reverter estas adaptações e desencadear uma resposta inflamatória. Portanto, o propósito do presente estudo foi analisar os efeitos do TR e do destreino na inflamação muscular e expressão de genes relacionados ao metabolismo da glicose em ratos alimentados por dieta hiperlipídica. Trinta ratos machos Wistar com idade de 2 meses foram subdivididos em três grupos: Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). O treinamento resistido foi realizado durante 12 semanas numa plataforma de salto, 3x na semana, cada sessão com 3 séries de 12 repetições, com incremento de carga a cada duas semanas. O grupo DHD interrompeu o treinamento a partir da oitava semana caracterizando a fase de destreino durante 4 semanas. Foi analisada a expressão da proteína TNF $\alpha$ , a expressão gênica de AMPK, GLUT-4 e MEF2A no músculo sóleo, além de analisada a sensibilidade à insulina e área da fibra muscular dos grupos. Os resultados mostraram que o treinamento resistido (DH vs DHT) aumentou a sensibilidade à insulina em 34% ( $p < 0,05$ ), a expressão dos genes AMPK em 23% ( $p < 0,05$ ), GLUT-4 em 24% ( $p < 0,05$ ) e MEF2A em 20% ( $p < 0,05$ ), e reduziu a expressão proteica em 51% e gênica 28% de

TNF $\alpha$  ( $p < 0,05$ ). O destreinamento (DHD vs DHT) resultou na reversibilidade do peso corporal final ( $p < 0,05$ ) e redução da área da fibra muscular ( $p < 0,05$ ). No entanto, a expressão de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida mesmo após a cessação do treinamento. Concluimos que o treinamento resistido exerce efeitos positivos na redução da inflamação local e melhora na expressão de genes relacionados ao metabolismo da glicose no músculo esquelético sendo que, estas adaptações são mantidas mesmo após quatro semanas de destreinamento.

## **Introdução**

O consumo elevado de gorduras na dieta vem sendo apontado como um dos principais fatores para iniciar alterações metabólicas ao organismo tais como, dislipidemia, síntese excessiva de lipídeos nos tecidos, produção exacerbada de proteínas inflamatórias e resistência à insulina [23,37,41], podendo conduzir a um estado de obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e esteatose hepática [15,29]. Neste contexto, o acúmulo de lipídeos nos tecidos e ácidos graxos circulantes aumenta a produção do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) [4,9], uma das principais proteínas inflamatórias que ao se ligar ao seu receptor de membrana (TNFR) pode levar a ativação de proteínas intracelulares pertencentes à família das proteínas cinase (IKK) que irão causar a translocação do Fator Nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) para o núcleo celular, resultando na transcrição de genes inflamatórios. Além disso, a sinalização do TNF $\alpha$  também ativa c-Jun N-terminal cinase (JNK), a qual induz alterações na captação de glicose estimulada pela insulina através da fosforilação em serina do Substrato do Receptor de Insulina – 1 (IRS-1) [10,31], causando resistência à insulina no músculo esquelético, o que é crucial para a gênese do diabetes tipo 2 [11].

O músculo esquelético tem um papel fundamental no controle glicêmico através da atividade contrátil. Este processo é controlado pela proteína cinase ativada por AMP (AMPK), que induz translocação do transportador de glicose - 4 (GLUT-4) para membrana plasmática para iniciar a captação de glicose para o meio intracelular [7]. A AMPK também é capaz de ativar proteínas com ações genômicas, como o fator potencializador de miócitos 2A (MEF2A), que controla genes envolvidos no metabolismo da glicose como o Slc2a4 (codificador do GLUT-4) [14].

Diante disso, intervenções que regulam a expressão de AMPK e reduzam inflamação podem servir como tratamento eficaz para indivíduos em estado de

obesidade e diabetes tipo 2. O exercício físico vem sendo uma estratégia eficaz e barata no tratamento de muitas doenças causadas por alterações metabólicas como a obesidade, levando a adaptações que provocam melhoria da saúde [18]. O treinamento resistido (TR) pode ser uma ótima escolha por exercer adaptações em diversos tecidos, já está bem descrito na literatura que o TR pode aumentar massa muscular, gasto energético em repouso, oxidação de gordura, sensibilidade à insulina e expressão de proteínas que estão envolvidas na captação de glicose [19,32].

Em relação à inflamação, em humanos já foi verificado seus efeitos benéficos na inflamação sérica de idosos e mulheres com obesidade já bem instalada [35,38]. No músculo esquelético, ainda não está claro os efeitos crônicos do TR, pois agudamente ocorre aumento de produção de proteínas inflamatórias principalmente através de contrações excêntricas [6]. Neste sentido, ainda é dúvida se a realização crônica do TR pode atenuar a inflamação, estudos em animais analisaram o efeito do TR na inflamação somente com contrações concêntricas na tentativa de atenuar esta resposta inflamatória [17,28]. Entretanto, ao realizar somente contrações concêntricas pode-se perder um grande efeito no crescimento muscular, já que as contrações excêntricas são fundamentais para promover esta adaptação morfológica [13,39].

Outra condição que normalmente é adotada por praticantes é a interrupção do treinamento, com possibilidade de reverter às adaptações adquiridas. No músculo esquelético já é bem conhecido que a cessação do TR leva à diminuição da força e massa muscular [8]. Porém, ainda são pouco explorados os efeitos da interrupção do TR na inflamação e na expressão de genes responsáveis pela captação de glicose no músculo esquelético. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do TR e do destreinamento na inflamação e expressão de genes relacionados ao metabolismo da glicose no músculo esquelético, bem como avaliar a sensibilidade à insulina e o tamanho da fibra muscular de ratos alimentados por dieta hiperlipídica.

## **Materiais e Métodos**

### **Animais**

Trinta ratos machos Wistar pesando em torno de 250g com idade de quatro semanas foram obtidos junto ao Biotério Central da UNESP - Câmpus de Botucatu, e permaneceram no Biotério II da FCT / Unesp - Câmpus Presidente Prudente, em gaiolas plásticas (30 x 16 x 19 cm) coletivas. Estes animais permaneceram em grupos



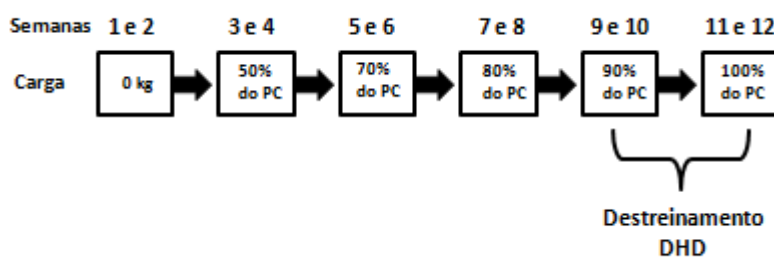
de 3 a 5 animais por gaiola, em ambiente com temperatura média de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas/12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 7:00 h. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animal (CEUA) da FCT / Unesp – Campus Presidente Prudente, sob número de protocolo 02/2015. Todos os procedimentos foram realizados para minimizar estresse e dor aos animais. Nas gaiolas foram oferecidas condições adequadas para o conforto do animal.

Quando os animais atingiram oito semanas de idade foram iniciados os protocolos de dieta hiperlipídica e TR concomitantemente. Os animais foram divididos em três grupos (n=10 por grupo): Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). Os animais foram alimentados com dieta hiperlipídica composta por salsicha, mortadela, bacon, bolacha doce, refrigerante e ração padrão, numa proporção de 2:2: 2:1:1:1, tendo composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos [33,34] e ração para roedores (marca SUPRA LAB – Alisul Ind. Alimentos Ltda - composição de 25% de proteínas, 3% de lipídeos, 18% de fibras, 11% de minerais, 2% de cálcio e 0,5% de fósforo) com fornecimento de água *ad libitum*, seguindo protocolo adotado em estudos anteriores. O peso corporal (PC) dos animais foi registrado semanalmente.

### **Treinamento Resistido**

Inicialmente foram realizadas 3 sessões de adaptação ao treinamento e aparelho sem adição de carga, sendo realizado apenas 1 série por sessão. O protocolo de TR foi realizado de acordo com o modelo de Tetsuro Tamaki, com algumas adaptações [33]. O aparelho foi projetado de maneira que o animal ficasse imobilizado vestindo um colete adaptado sobre uma plataforma metálica. A estimulação elétrica foi realizada utilizando um clipe metálico que envolveu a extremidade da cauda do animal ligado a um eletroestimulador do tipo Dualpex 961, da Quarker, calibrado pelo INMETRO. Os parâmetros utilizados foram: Frequência de 1 Hertz (Hz), duração de 0,3s com intervalo de 2s entre cada estimulação elétrica, e a intensidade ajustada de maneira que o animal executasse o movimento completo 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 ou estresse aos animais. Com essa estimulação, o rato realizou o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo), levantando uma carga que era posicionada na

região posterior do colete. Os animais realizaram 3 séries de 12 repetições com 1 minuto de intervalo, 3 vezes por semana, por doze semanas. Já os animais do grupo DHD realizaram o mesmo protocolo, porém, a partir da oitava semana houve interrupção do treinamento, caracterizando período de destreinoamento por 4 semanas. A carga utilizada na semana 1 e 2 do treinamento foi equivalente ao Peso Corpóreo (PC), sendo realizada uma progressão na carga a partir da terceira semana adicionando-se cargas correspondentes a 50% do PC até atingir 100% do PC (Figura 1).



**Figura 1.** Diagrama do Protocolo de Treinamento Resistido realizado pelos animais DHT e DHD.

### Teste de tolerância à insulina (ITT)

Para a avaliação da sensibilidade à insulina “in vivo”, foi realizado um teste de tolerância à insulina. Neste teste foi administrada insulina regular na dose de 50  $\mu$ U/100g de peso corpóreo intraperitonealmente, sendo coletado sangue por punção caudal a cada 5 minutos para análise da concentração da glicose em diferentes tempos (0 – basal a 30 minutos), após a administração da insulina. Foi calculada a constante de decaimento da glicose (kITT), a qual foi obtida a partir da fórmula  $0,693/(T_{1/2})$ . O valor de  $T_{1/2}$  (que é o tempo necessário para reduzir a glicemia basal para metade do valor) foi obtido na fase linear da curva de decaimento da glicose, nas concentrações de glicose de 5 a 30 minutos do teste [3]. Este teste foi realizado antes da eutanásia dos animais, sendo utilizados 6 animais por grupo para a realização do teste. A glicemia foi detectada em glicofitas em glicosímetro (Biocheck, Brasil).

### Coleta do material

Após 24 horas da última sessão de treinamento, os animais foram submetidos a um jejum de seis horas. A eutanásia foi realizada por administração de anestésico Tiopental Sódico (60mg/kg PC), e em seguida foi retirado o músculo esquelético sóleo

e o tecido adiposo periepididimal, retroperitoneal e mesentérico para a quantificação da adiposidade.

### **Análise histológica**

Os blocos de tecido do músculo sóleo foram retirados do nitrogênio líquido e transferidos para a câmara do micrótomo criostato (-20°C), sendo mantidos neste ambiente, para estabelecer-se o equilíbrio térmico, durante 20 a 30 minutos. Posteriormente, foram fixados em suportes metálicos do criostato por meio de pequenas quantidades de adesivo (OCT – Tissue Tek Compound) e orientados de modo que os cortes com espessura de 5µm proporcionassem observação transversal à direção das fibras musculares. Em seguida foram montadas as lâminas, e posteriormente coradas pelo método Hematoxilina e Eosina (HE). A análise histológica foi realizada por meio do software NIS-Elements D3.0 - SP7 - Nikon®. Foram capturados aproximadamente três campos de cada amostra muscular com objetiva 10x, sendo efetuadas mensurações do menor diâmetro de 120 fibras musculares por animal (µm).

### **Expressão Gênica**

Para a análise do mRNA foi utilizada a técnica de RT-PCR. O RNA total do músculo sóleo foi isolado com Brazol (LGC Biotecnologia, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante. Após a determinação da concentração do RNA total das amostras foi realizado Ensaio de Transcrição Reversa para a síntese de fita de cDNA. Em seguida, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação dos genes do TNF $\alpha$  (sense 5' TGTGGCTCAGGGTCCAACCTC 3'; antisense 5' TGAGCAGAGCAGCCTGATCC 3', Sequência de referência: NM\_012675.3, 32 ciclos, temperatura de anelamento 60°C), da AMPK (sense 5' AATAATGAACCAAGCCAGTG 3'; antisense 5' CTCCGCCATAATGTCGTATG 3', Sequência de referência: NM\_023991.1, 34 ciclos, temperatura de anelamento 52°C), do GLUT-4 (sense 5' CCCCTCCAGGGCAAAGGAT 3'; antisense 5' TCCTGGAGGGGAACAAGAA 3', Sequência de referência: NM\_012751.1, 32 ciclos, temperatura de anelamento 54°C) e MEF2A (sense 5' TAACACCAACCAGAACATCA; antisense 5' CACTCACACCGACATACATA 3', Sequência de referência: XP\_008757762.1, 30 ciclos, temperatura de anelamento 58°C). Após a amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose e

visualizados com iluminação UV (Kodak Molecular Imaging Software Version 4.0, 2-User e Eletronic UV Transilluminator Ultra. Lum. Inc). A análise densitométrica foi feita utilizando-se o programa Scion Image (Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA). A expressão do mRNA de TNF $\alpha$ , AMPK, GLUT-4 e MEF2A foi normalizada pela expressão do gene que codifica a proteína constitutiva Gliceraldeído 3-Fosfato Desidrogenase (GAPDH sense 5' - CCTGGTATGACAATGAATAGG - 3'; antisense 5' - TCTCTTGCTCTCAGTATCCT - 3', Sequência de referência: AF106860.2, 30 Ciclos, temperatura de anelamento 58°C).

### **Western Blotting**

O músculo sóleo foi homogeneizado em tampão composto por Sacarose 250 mM; Hepes 20 mM; Azida de sódio 5 mM; EDTA 2 mM; Fluoreto de sódio 10 mM; Pirofosfato de sódio 100 mM; Ortovanadato de sódio 10 mM; Ácido Okadaico 1:10000; PMSF e PIC 1:100. Em seguida, os homogeneizados foram transferidos para tubos tipo “eppendorf” e centrifugados a 12000 rpm, por 40 min, a 4°C. A concentração das proteínas foi avaliada pelo método de Bradford (Bio-Rad, Dye Reagent Concentrate), com a leitura das amostras realizada em 595 nm.

Após a dosagem de proteínas totais, 60  $\mu$ g de proteína foram previamente aquecidas por 5 min a 100 °C em uma mistura contendo 0,05 M Tris HCl pH 6,8, 15% glicerol, 0,05 % azul de bromofenol, SDS 10 % e mercapto-etanol 6% (Laemmli). Em seguida, as amostras foram aplicadas em gel de poliacrilamida com Gel de empacotamento (4%) contendo acrilamida 30%, Tris 1,0 M (pH= 6,8), SDS (dodecil sulfato de sódio) 10%, APS (persulfato de amônia) 10%, Temed e Água Milli-Q (qsp), e Gel de separação (10 %) constituído por acrilamida 30%, Tris 1,5 M (pH= 8,8), SDS 10%, APS 10%, Temed e Água Milli-Q (qsp). Posteriormente, as amostras foram submetidas à eletroforese em Tampão de corrida (25 mM de Tris – Base, 192 mM de glicina, e SDS 0,1%. A voltagem foi mantida em 40 V até as amostras atravessarem o gel de empacotamento e, em aproximadamente 90 V, durante a passagem pelo gel de separação. Uma alíquota de marcador de peso molecular (Thermo Scientific) foi aplicada em uma das colunas do gel para se estimar a localização da banda correspondente às proteínas de interesse.

Após a eletroforese, realizou-se a transferência das proteínas do gel para uma membrana de PVDF que foi previamente ativada em metanol. A transferência das proteínas do gel para a membrana foi realizada em tampão 25 mM de Tris – Base, 192

mM de Glicina e Metanol 20%. Após a transferência, a membrana foi corada com Vermelho Ponceau, por aproximadamente 3 min, para avaliar a qualidade da transferência e utilização desta membrana corada como controle de quantidades semelhantes de amostras aplicadas. Em seguida a membrana foi incubada em solução bloqueadora (0,05 M Tris HCl; Tween 20; NP-40, azida sódica e albumina) durante toda a noite, sob agitação constante e à temperatura de 4 °C. Após o bloqueio das membranas ocorreu incubação com o anticorpo específico: anti-TNF- $\alpha$  da Abcam (1:1000) em solução de bloqueio (1:3) / solução de lavagem (2:3) a 4°C, durante toda a noite, sob agitação constante.

Posteriormente, a membrana foi lavada 4 vezes, por 15 minutos, em solução de lavagem (0,05 M Tris HCl; 1,5 M NaCl; Tween 20; NP-40). Após as lavagens, a membrana foi submetida à incubação com anticorpo secundário *anti-rabbit IgG* (Jackson ImmunoResearch Lab) diluído na proporção de 1:5000 em solução de bloqueio (1:3)/solução de lavagem(2:3), por 1 h em temperatura ambiente, sob agitação constante. Em seguida, a membrana foi lavada 4 vezes por 15 minutos em solução de lavagem. A detecção das bandas foi obtida por quimiluminescência após exposição das membranas em um equipamento de análise de imagens (Amersham Imager 600 - GE Healthcare Life Sciences), por tempo aproximado de 2 min. A abundância das proteínas foi estimada por meio da análise densitométrica das bandas (método semi-quantitativo), sendo a expressão proteica de TNF $\alpha$  foi normalizada por Ponceau.

### **Análise estatística**

Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão, após a confirmação da normalidade dos dados através do teste Kolmogorov-Smirnov. Teste ANOVA *one-way* com *post-hoc* de Tukey foi utilizado para a comparação entre os grupos. Valores de P inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significantes. O software utilizado para a análise estatística dos dados foi o SPSS, versão 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

## **Resultados**

### **Peso corporal, adiposidade e peso do músculo sóleo**

A Tabela 1 contém os resultados de peso de animais e dos tecidos adiposo e muscular. Pode-se verificar que o grupo DHT apresentou redução de 18% do peso

corporal e 42% na adiposidade comparada ao grupo DH ( $p < 0,05$ ), sem variação no músculo sóleo. Com o destreino, o grupo DHD aumentou o peso corporal comparado ao DHT ( $p < 0,05$ ), e apesar da ausência de diferença significativa, o grupo DHD aumentou em 31% a adiposidade comparada ao DHT, mantendo-se 16% menor do que o grupo DH.

**Tabela 1.** Peso corporal final, adiposidade e peso do tecido muscular solear.

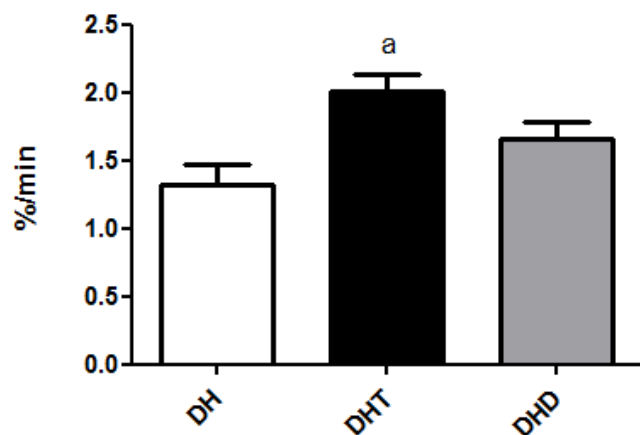
<b>Grupos</b>	<b>Peso Final (g)</b>	<b>Adiposidade (g)</b>	<b>Peso Sóleo (g)</b>
<b>DH</b>	519,1±36,04	30,75±5,54	0,223±0,04
<b>DHT</b>	422,1±47,81 <sup>a</sup>	17,54±6,24 <sup>a</sup>	0,223±0,01
<b>DHD</b>	522,9±66,22 <sup>b</sup>	25,70±12,75	0,226±0,04

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão médio; Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreino (DHD)  $n = 10$  por grupo. <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH, <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs DHT.

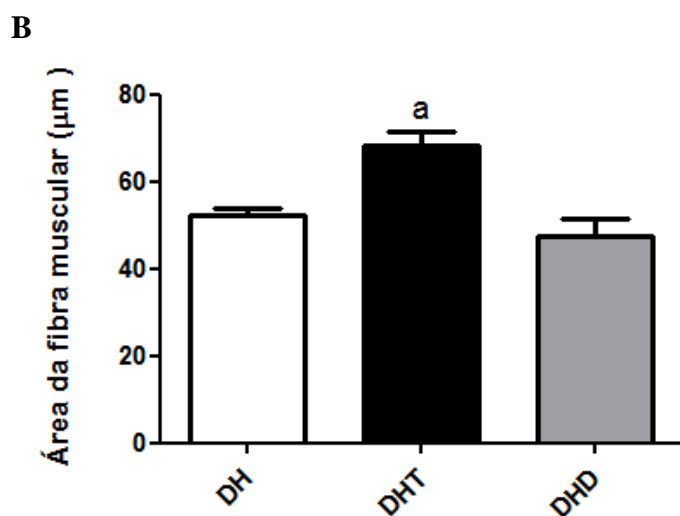
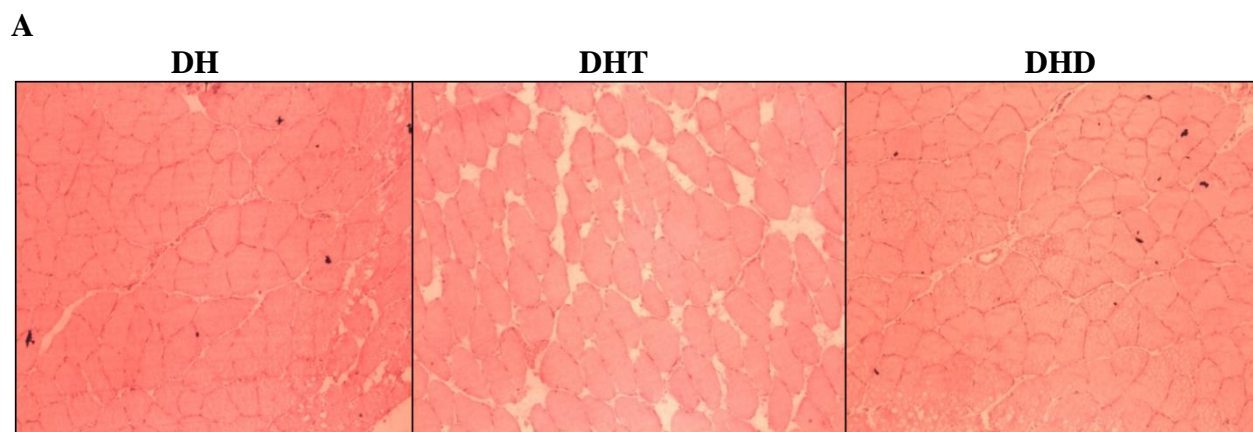
### **Sensibilidade à insulina e área da fibra muscular**

Na figura 1, pode ser verificado que o TR melhorou a sensibilidade à insulina com aumento de 34% no kITT do grupo DHT comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). Embora sem diferença estatística, por outro lado, o grupo DHD apresentou diminuição de 17% no kITT comparado ao grupo DHT.

O TR (DH vs DHT) também aumentou o tamanho da fibra muscular ( $p < 0,05$ ). No entanto, com a cessação do treinamento (DHD vs DHT) o grupo DHD apresentou redução no tamanho da fibra muscular ( $p < 0,05$ ) (Fig.2).



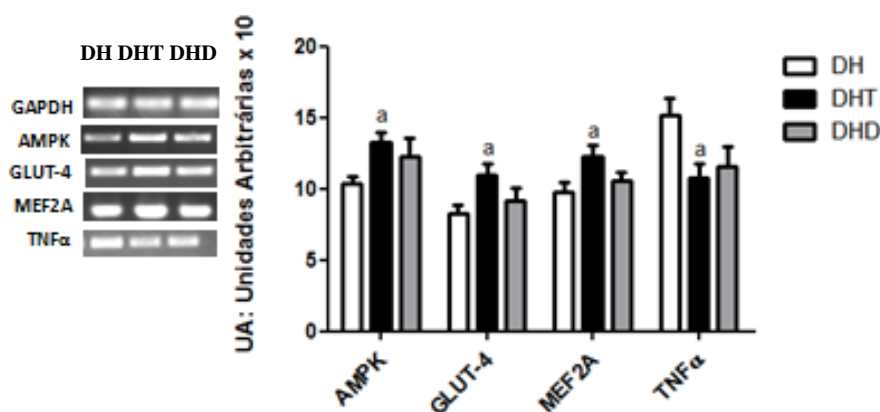
**Fig.1 Constante de decaimento da glicose (kITT)** - Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). Dados apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH.  $n = 6$  por grupo.



**Fig 2. Área da fibra muscular:** A: Imagens histológicas do músculo sóleo. B: Representação em gráfico. Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH e DHD  $n = 6$  por grupo.

### Expressão dos genes da AMPK, GLUT-4, MEF2A e TNF $\alpha$

O TR aumentou significativamente a expressão dos genes que codificam AMPK, GLUT-4 e MEF2A, além de reduzir TNF $\alpha$  no músculo sóleo (Fig. 3). O grupo DHT apresentou aumento de 23% para AMPK, 24% para GLUT-4 e 20% para MEF2A comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). Já a expressão de TNF $\alpha$  estava reduzida em 28% no grupo DHT comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). Com a cessação do treinamento não houve diferença significativa para a expressão do genes estudados.

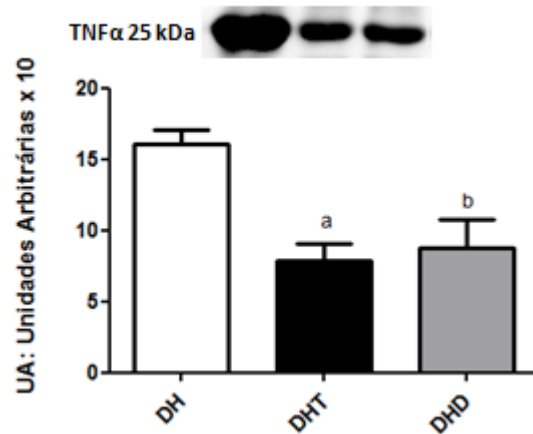


**Fig 3.** Expressão do mRNA de AMPK, GLUT-4, MEF2A e TNF $\alpha$  no músculo sóleo. Dieta hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH. Todos os genes foram normalizados pela expressão gênica de GAPDH,  $n = 10$  por grupo.

### Expressão da proteína TNF $\alpha$

Assim como para os resultados de mRNA, o TR reduziu a expressão proteica de TNF $\alpha$  no músculo sóleo (Fig. 5). O grupo DHT apresentou redução de 51% comparada ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). Mesmo com o destreinamento, a expressão proteica permaneceu reduzida, o grupo DHD apresentou redução de 45% no conteúdo proteico de TNF $\alpha$  comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ).





**Fig. 5** Expressão proteica de TNF $\alpha$ /Ponceau no músculo sóleo. Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). <sup>a</sup> p < 0,05 vs DH, <sup>b</sup> p < 0,05 vs DH.

## Discussão

No presente estudo, objetivou-se avaliar o efeito da prática de treinamento resistido em animais alimentados com dieta hiperlipídica/hipercalórica. O principal achado do nosso estudo foi que o TR pode influenciar de maneira benéfica na expressão tanto da proteína como no mRNA de TNF $\alpha$  em músculo esquelético concomitante a uma dieta hiperlipídica. Ou seja, o TR adotado foi eficiente em reduzir a inflamação local no músculo esquelético, mesmo após um mês da cessação da atividade. Além disso, este treinamento evitou incremento da adiposidade e aumentou a expressão de genes envolvidos no metabolismo da glicose, sensibilidade à insulina e tamanho da fibra muscular. Estes resultados mostram que o TR além de ativar vias anabólicas como a síntese de proteínas através da Proteína Alvo da Rapamicina em Mamíferos (mTOR), como já demonstrado na literatura [24], pode também ativar outras vias metabólicas que irão influenciar no metabolismo energético e redução da inflamação levando a adaptações benéficas a saúde [1].

Diante do elevado dano muscular e resposta inflamatória induzida por contrações excêntricas no treinamento resistido, ainda não estava demonstrada a eficiência deste treinamento na redução da inflamação no músculo esquelético em estado de obesidade e ingestão de dieta hiperlipídica. Contrariamente um estudo na literatura mostrava que o treinamento resistido e não o aeróbio, induzia ativação de uma subunidade do complexo IKK, o IKK $\beta$ , a qual, por sua vez, leva à fosforilação da Proteína Inibitória Kappa B (I $\kappa$ B), e, com isso, promovendo o aumento da transcrição de genes inflamatórios através da translocação do NF- $\kappa$ B para a região nuclear [30].

Neste contexto, com a finalidade de atenuar uma resposta inflamatória durante a sessão, estudos buscaram investigar seus efeitos na inflamação utilizando subida na escada como forma de TR somente com contrações concêntricas. Este modelo de treinamento mostra efeitos benéficos na redução proteica de TNF $\alpha$  e mRNA de *Toll Like Receptor – 4* (TLR-4) e aumento da proteína anti-inflamatória Interleucina-10 (IL-10) em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina [45]. Entretanto, outro estudo mostra que este modelo de treinamento reduz a expressão da Interleucina-6 (IL-6) e aumenta a expressão da Interleucina-15 (IL-15), sem reduzir a expressão proteica de TNF $\alpha$  também em animais diabéticos [28]. Recentemente um estudo mostrou que em animais idosos, este modelo de treinamento resultou na diminuição da expressão proteica TNF $\alpha$  e aumento da expressão de IL-6 e NF-kB, não exercendo efeitos na expressão de IL-10 no músculo esquelético [17]. No entanto, ao adotar este modelo de treinamento poder-se-ia perder ganhos no aumento da massa muscular, já que está bem descrito na literatura a eficácia das contrações excêntricas na hipertrofia muscular [39]. Nossos resultados mostram que mesmo com contrações excêntricas ocorre redução na expressão da proteína e do mRNA de TNF $\alpha$  no músculo esquelético, além do aumento do tamanho da fibra muscular.

O entendimento da prescrição do TR como método anti-inflamatório em indivíduos com alterações metabólicas é essencial, um estudo mostra que uma sessão de TR com intensidade baixa e moderada (50 e 75% de 1 RM) em pacientes com doença coronária não provoca aumento exacerbado na concentração sérica de TNF $\alpha$  e IL-6. Além disso, este modelo aumentou imediatamente a concentração de IL-10 (citocina conhecida anti-inflamatória), mantendo-se após sessenta minutos [43]. Adicionalmente, mulheres que praticam o TR apresentam 124% menor expressão de TLR-4 na superfície celular do que mulheres não treinadas [25].

A capacidade de resolução da inflamação é dependente da relação entre as respostas inflamatórias e anti-inflamatórias. Nosso estudo mostra que, mesmo com o destreinamento a expressão proteica de TNF $\alpha$  no músculo esquelético permanece reduzida, havendo pouca alteração com o grupo treinado, apesar do aumento das respostas inflamatórias durante a sessão do TR [6]. Nós acreditamos que este resultado pode ser influenciado por incremento das respostas anti-inflamatórias após o TR [12,43], principalmente através da IL-10 que auxilia na regulação da expressão de proteínas inflamatórias [22]. Embora não se tenha avaliado a IL10 no nosso modelo, esta hipótese é confirmada em um estudo com mulheres pós-menopausa e obesas que

realizaram doze semanas de TR com intensidade moderada (8-12 repetições). Os resultados desse estudo mostram diminuição em 29% na circulação de TNF $\alpha$  e aumento de 20% na produção de IL-10 estimulada por lipopolissacarídeo (LPS) sem mudanças no peso corporal [35]. Entretanto, embora tenhamos tentado avaliar esta citocina, no presente estudo não foi possível detectar a expressão local desta citocina pelo método utilizado de RT-PCR.

Em relação ao metabolismo da glicose, partindo do princípio que para ativar AMPK é necessário induzir um acúmulo de AMP e cálcio no meio intracelular, o TR pode influenciar na ativação desta proteína através do volume elevado de repetições durante as séries. Apesar de não haver estudos corroborando com esta hipótese, nosso resultado mostra que realizar o treinamento resistido com doze repetições durante 12 semanas aumenta expressão dos genes AMPK, GLUT-4 e MEF2A. Um estudo que compara agudamente o treinamento aeróbio com o resistido na ativação de mTOR e AMPK utilizando também doze repetições, mostrou que o treinamento resistido além de ativar mTOR e proteína quinase ribossomal S6 de 70 kDA (P70S6K), também produz aumento da ativação de AMPK imediatamente após a sessão, embora o treinamento aeróbio tenha sido superior na ativação de AMPK, não se observou ativação tanto de mTOR como P70S6K [42]. Outro estudo mostra que cronicamente ao utilizar um número menor de repetições de 8 a 10 aumenta a atividade da subunidade AMPK $\alpha$ 1, não exercendo efeitos na fosforilação de AMPK $\alpha$ 1, AMPK $\alpha$ 2 e conteúdo total de AMPK em jovens e idosos [20].

A ativação contínua de AMPK através do exercício físico é essencial para promover controle glicêmico através de ações não genômicas com translocação do GLUT-4 para membrana plasmática e também por levar a adaptações no metabolismo da glicose através de ações genômicas, pois AMPK provoca a fosforilação de HDAC5 e consequentemente dissociação com MEF2A. A saída de HDAC5 do núcleo e MEF2A livre leva o aumento da transcrição gênica de GLUT-4 [26,27]. Na literatura se observou que a atividade contrátil “in vitro” no músculo esquelético é capaz de aumentar a expressão gênica e proteica do GLUT-4 através da ação genômica de MEF2 [21]. No entanto, pouco se sabe sobre a ativação desta via através do TR. O presente estudo mostra que o TR exerce benefícios no metabolismo da glicose através do aumento da sensibilidade à insulina e expressão gênica de AMPK, GLUT-4 e MEF2A. Outro estudo do nosso grupo de pesquisa, utilizando o mesmo modelo de treinamento, mostra resultados que corroboram com o presente estudo, apresentando aumento da

expressão proteica de GLUT-4, sensibilidade à insulina, além de diminuir a expressão gênica de TNF $\alpha$  e da Proteína Supressora de Sinalização de Citocinas - 3 (SOCS3) [34]. Utilizando também o mesmo modelo de treinamento, estudos prévios mostram que tanto animais alimentados por dieta padrão e dieta hiperlipídica aumenta a via de sinalização da insulina por incremento da associação entre IRS-1 e Fosfatidilinositol 3-Quinase (PI3q), atividade da Proteína Quinase B (Akt) e expressão proteica do GLUT-4 [19].

Outro achado no presente estudo foi que a cessação do treinamento resistido levou à recuperação do peso corporal e adiposidade. Este resultado corrobora com um estudo mostrando que após quatro semanas da cessação do treinamento aeróbio ocorre recuperação da adiposidade, aumento da atividade de enzimas lipogênicas e incorporação de glicose em lipídeos [40]. Além disso, o destreinamento reduziu o tamanho da fibra muscular, embora não tenhamos feito esta avaliação, nós acreditamos que isto pode ter ocorrido devido à cessação do estímulo de síntese proteica através da lesão muscular e secreção de hormônios anabólicos como a Testosterona e Fator de Crescimento Semelhante à Insulina -1 (IGF-1), sendo estes necessário na ativação de mTOR [16,44]. Entretanto, a cessação do treinamento resistido preserva a quantidade de mionúcleos adquiridos durante o treinamento [5], isto leva a um reganho de massa muscular mais efetivo com a volta dos estímulos.

Também observamos que a cessação por quatro semanas do TR provocou redução moderada na expressão gênica de AMPK, GLUT-4 e MEF2A e na sensibilidade à insulina, mantendo valores acima dos valores de animais que não foram submetidos ao treinamento. Este resultado mostra a eficácia do TR no metabolismo da glicose, no entanto, nós acreditamos que a reversibilidade desta adaptação pode acontecer em um período de tempo maior, aproximadamente noventa dias após a cessação do TR, levando à diminuição da capacidade de captação de glicose pela insulina em jovens saudáveis, como já mostrado em estudo na literatura [2]. E isso pode acontecer principalmente pela redução na expressão e atividade de AMPK e GLUT-4 no músculo esquelético [36].

Apesar das limitações encontradas no presente estudo por não avaliar a expressão e ativação de outras proteínas, nosso estudo utiliza um modelo de treinamento em animais que mais se aproxima do treinamento realizado por humanos com contrações tanto concêntricas quanto excêntricas, sendo que o movimento se assemelha com o agachamento. Sugerimos estudos futuros que busquem investigar a eficácia do

TR em ativar outras vias moleculares em diferentes intensidades e número de repetições.

## Conclusões

No presente estudo nós concluímos que o TR exerce efeitos positivos na redução da inflamação e melhora do metabolismo da glicose sendo que, estas adaptações são sustentadas mesmo após quatro semanas de destreinamento. Nós sugerimos que o TR realizado com número moderado de repetições (~12) e com contrações excêntricas, além de aumentar tamanho da fibra muscular e sensibilidade à insulina é capaz de aumentar a expressão gênica da via AMPK/GLUT-4/MEF2A e ainda reduzir a expressão de TNF $\alpha$  nos músculo esquelético, podendo ser um método de tratamento eficiente para indivíduos com alterações metabólicas.

Agradecimentos: Ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## Referências

1. Alvehus M, Boman N, Söderlund K et al. Metabolic adaptations in skeletal muscle, adipose tissue, and whole-body oxidative capacity in response to resistance training. *Eur J Appl Physiol* 2014; 114: 1463-1471
2. Andersen JL, Schjerling P, Andersen LL et al. Resistance training and insulin action in humans: effects of de-training. *J Physiol* 2003; 551: 1049-1058
3. Bonora E, Moghetti P, Zaccaro C et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 374-378
4. Borst SE, Conover CF. High-fat diet induces increased tissue expression of TNF-alpha. *Life Sci* 2005; 77: 2156-2165
5. Bruusgaard JC, Johansen IB, Egner IM et al. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 15111-15116
6. Buford TW, Cooke MB, Willoughby DS. Resistance exercise-induced changes of inflammatory gene expression within human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2009; 107: 463-471
7. Cao S, Li B, Yi X et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. *PLoS One* 2012; 7: e51709
8. Correa CS, Baroni BM, Radaelli R et al. Effects of strength training and detraining on knee extensor strength, muscle volume and muscle quality in elderly women. *Age (Dordr)* 2013; 35: 1899-1904

9. Cortez M, Carmo LS, Rogero MM et al. A high-fat diet increases IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  production by increasing NF- $\kappa$ B and attenuating PPAR- $\gamma$  expression in bone marrow mesenchymal stem cells. *Inflammation* 2013; 36: 379-386
10. de Alvaro C, Teruel T, Hernandez R et al. Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappaB kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J Biol Chem* 2004; 279: 17070-17078
11. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32 Suppl 2: S157-163
12. Della Gatta PA, Garnham AP, Peake JM et al. Effect of exercise training on skeletal muscle cytokine expression in the elderly. *Brain Behav Immun* 2014; 39: 80-86
13. Farthing JP, Chilibeck PD. The effects of eccentric and concentric training at different velocities on muscle hypertrophy. *Eur J Appl Physiol* 2003; 89: 578-586
14. Gan Z, Burkart-Hartman EM, Han DH et al. The nuclear receptor PPAR $\beta/\delta$  programs muscle glucose metabolism in cooperation with AMPK and MEF2. *Genes Dev* 2011; 25: 2619-2630
15. Gao M, Ma Y, Liu D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. *PLoS One* 2015; 10: e0119784
16. Gonzalez AM, Hoffman JR, Townsend JR et al. Intramuscular anabolic signaling and endocrine response following high volume and high intensity resistance exercise protocols in trained men. *Physiol Rep* 2015; 3:
17. Jung S, Ahn N, Kim S et al. The effect of ladder-climbing exercise on atrophy/hypertrophy-related myokine expression in middle-aged male Wistar rats. *J Physiol Sci* 2015:
18. Khoo J, Dhamodaran S, Chen DD et al. Exercise-Induced Weight Loss is More Effective Than Dieting for Improving Adipokine Profile, Insulin Resistance and Inflammation in Obese Men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2015:
19. Krisan AD, Collins DE, Crain AM et al. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* 2004; 96: 1691-1700
20. Li M, Verdijk LB, Sakamoto K et al. Reduced AMPK-ACC and mTOR signaling in muscle from older men, and effect of resistance exercise. *Mech Ageing Dev* 2012; 133: 655-664
21. Lima GA, Anhê GF, Giannocco G et al. Contractile activity per se induces transcriptional activation of SLC2A4 gene in soleus muscle: involvement of MEF2D, HIF-1 $\alpha$ , and TRAlph transcriptional factors. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E132-138
22. Lira FS, Rosa JC, Pimentel GD et al. Both adiponectin and interleukin-10 inhibit LPS-induced activation of the NF- $\kappa$ B pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Cytokine* 2012; 57: 98-106
23. Ludgero-Correia A, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA et al. Effects of high-fat diet on plasma lipids, adiposity, and inflammatory markers in ovariectomized C57BL/6 mice. *Nutrition* 2012; 28: 316-323
24. Luo L, Lu AM, Wang Y et al. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats. *Exp Gerontol* 2013; 48: 427-436
25. McFarlin BK, Flynn MG, Campbell WW et al. TLR4 is lower in resistance-trained older women and related to inflammatory cytokines. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 1876-1883
26. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle. *Diabetes* 2004; 53: 1208-1214
27. McGee SL, Sparling D, Olson AL et al. Exercise increases MEF2- and GEF DNA-binding activity in human skeletal muscle. *FASEB J* 2006; 20: 348-349

28. Molanouri Shamsi M, Hassan ZH, Gharakhanlou R et al. Expression of interleukin-15 and inflammatory cytokines in skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats: effect of resistance exercise training. *Endocrine* 2014; 46: 60-69
29. Morgan K, Uyuni A, Nandgiri G et al. Altered expression of transcription factors and genes regulating lipogenesis in liver and adipose tissue of mice with high fat diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 843-854
30. Møller AB, Vendelbo MH, Rahbek SK et al. Resistance exercise, but not endurance exercise, induces IKK $\beta$  phosphorylation in human skeletal muscle of training-accustomed individuals. *Pflugers Arch* 2013; 465: 1785-1795
31. Nguyen MT, Satoh H, Favelyukis S et al. JNK and tumor necrosis factor-alpha mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 35361-35371
32. Ormsbee MJ, Choi MD, Medlin JK et al. Regulation of fat metabolism during resistance exercise in sedentary lean and obese men. *J Appl Physiol (1985)* 2009; 106: 1529-1537
33. Panveloski-costa AC, Papoti M, Moreira RJ et al. Respostas lactacidêmicas de ratos ao treinamento intermitente de alta intensidade. In. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*; 2012: 122-125
34. Panveloski-Costa AC, Pinto Júnior DA, Brandão BB et al. [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: 155-163
35. Phillips MD, Patrizi RM, Cheek DJ et al. Resistance training reduces subclinical inflammation in obese, postmenopausal women. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44: 2099-2110
36. Prior SJ, Goldberg AP, Ortmeyer HK et al. Increased skeletal muscle capillarization independently enhances insulin sensitivity in older adults after exercise training and detraining. *Diabetes* 2015:
37. Roberts-Toler C, O'Neill BT, Cypess AM. Diet-induced obesity causes insulin resistance in mouse brown adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)* 2015:
38. Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M et al. Role of Toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways on the inflammatory response to resistance training in elderly subjects. *Age (Dordr)* 2014; 36: 9734
39. Roig M, O'Brien K, Kirk G et al. The effects of eccentric versus concentric resistance training on muscle strength and mass in healthy adults: a systematic review with meta-analysis. *Br J Sports Med* 2009; 43: 556-568
40. Sertie RA, Andreotti S, Proença AR et al. Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. *J Appl Physiol (1985)* 2013; 115: 394-402
41. van der Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging (Albany NY)* 2015; 7: 256-268
42. Vissing K, McGee S, Farup J et al. Differentiated mTOR but not AMPK signaling after strength vs endurance exercise in training-accustomed individuals. *Scand J Med Sci Sports* 2013; 23: 355-366
43. Volaklis KA, Smilios I, Spassis AT et al. Acute pro- and anti-inflammatory responses to resistance exercise in patients with coronary artery disease: a pilot study. *J Sports Sci Med* 2015; 14: 91-97
44. White JP, Gao S, Puppa MJ et al. Testosterone regulation of Akt/mTORC1/FoxO3a signaling in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365: 174-186

45. Zanchi NE, Lira FS, de Siqueira Filho MA et al. Chronic low frequency/low volume resistance training reduces pro-inflammatory cytokine protein levels and TLR4 mRNA in rat skeletal muscle. Eur J Appl Physiol 2010; 109: 1095-1102

---

## *Artigo 2*

### **Artigo II**

#### DESTREINAMENTO DE 4 SEMANAS NÃO REVERTE OS EFEITOS POSITIVOS INDUZIDOS POR TREINAMENTO RESISTIDO NO TECIDO ADIPOSEO VISCERAL DE RATOS ALIMENTADOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA

**FREITAS MC<sup>1</sup>, FESTUCCIA, WT<sup>2</sup>, NUNES MT<sup>2</sup> E SERAPHIM PM<sup>1</sup>**

1 – Departamento de Fisioterapia, FCT – UNESP Presidente Prudente – SP

2 – Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo (USP)

### **RESUMO**

A hipertrofia de adipócitos vem sendo considerada um fator chave para desencadear uma condição de hipóxia local e conseqüentemente aumento na produção de proteínas inflamatórias. O treinamento resistido (TR) pode ser uma intervenção eficaz devido às adaptações no metabolismo celular em diversos tecidos. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos do TR na inflamação e expressão de PPAR $\gamma$  no tecido adiposo visceral. Além disso, a interrupção do treinamento é uma condição adotada por muitos praticantes, o destreino pode acelerar o ganho de gordura corporal, o que pode desencadear um aumento de inflamação local e sistêmica. Portanto, o objetivo do



estudo é analisar os efeitos do TR e o destreinamento na inflamação e expressão de PPAR $\gamma$  no TA periepídídimal visceral de ratos alimentados por dieta hiperlipídica. Trinta ratos machos Wistar com idade de 2 meses foram subdivididos em três grupos, Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). O treinamento resistido foi realizado durante 12 semanas, numa plataforma de salto, 3x por semana, cada sessão com 3 séries de 12 repetições, com incremento de carga a cada duas semanas. O grupo DHD interrompeu o treinamento a partir da oitava semana para a realização do destreinamento por 4 semanas. Foi analisada a expressão gênica de TNF $\alpha$ , ACC, HIF-1 $\alpha$  e PPAR $\gamma$  por RT-PCR, também foi analisada a expressão proteica de TNF $\alpha$  e PPAR $\gamma$  por Western blotting. O grupo DHT apresentou menor peso corporal, ganho de peso e peso de tecido adiposo epididimal, retroperitoneal e mesentérico ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH. Além disso, o grupo DHT apresentou menor expressão gênica de TNF $\alpha$  (40%), ACC (32%) e HIF-1 $\alpha$  (31%) ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH no TA periepídídimal. O grupo DHT também apresentou redução de 40% na expressão proteica de TNF $\alpha$  e aumento de 49% na expressão proteica de PPAR $\gamma$  ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH. O grupo DHD apresentou ganho de peso e gordura corporal ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DHT. O grupo DHD apresentou aumento na expressão gênica de PPAR $\gamma$  ( $p < 0,05$ ) comparado aos grupos DH e DHT. Já a expressão proteica de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida no grupo DHD e de PPAR $\gamma$  manteve-se elevada ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo DH. Portanto, concluímos que o TR exerce efeitos positivos no metabolismo celular do TA visceral, atenuando a expressão de TNF $\alpha$ , ACC e HIF-1 $\alpha$  e ainda evitou redução na expressão de PPAR $\gamma$  mesmo com a ingestão de uma dieta hiperlipídica. Além disso, mesmo com o ganho de gordura corporal pela cessação do treinamento a expressão de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida e de PPAR $\gamma$  permaneceu aumentada, mostrando que o destreinamento por quatro semanas pode acelerar o ganho de gordura corporal, porém sem desencadear uma resposta inflamatória, evidenciando a perpetuação de efeitos positivos do TR sobre o tecido adiposo.

**Palavras-Chave:** Inflamação, treinamento resistido, destreinamento, dieta hiperlipídica.

## Introdução

A ingestão crônica de uma dieta hiperlipídica associado à inatividade física vem sendo consideradas grandes componentes para o desenvolvimento de doenças metabólicas como o Diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. O aumento na circulação sistêmica de ácidos graxos saturados pode levar a inúmeros prejuízos em diversos tecidos através do acúmulo excessivo de triacilglicerol e liberação de proteínas inflamatórias (1, 2). No tecido adiposo (TA) uma condição crônica em que a lipogênese supere a lipólise e oxidação de ácidos graxos, garante a expansão do tecido através da hipertrofia e hiperplasia de adipócitos. Esta condição pode dar início a distúrbios metabólicos locais e posteriormente sistêmicos (3, 4).

O TA visceral é ricamente irrigado por vasos sanguíneos para ofertar oxigênio, substratos energéticos, hormônios e outros metabólitos, esta característica permite que este tecido obtenha uma grande capacidade de armazenar triacilglicerol (5). A hipertrofia das células adiposas vem sendo considerada um grande fator para o início da inflamação sistêmica e conseqüentemente o surgimento de doenças metabólicas e cardiovasculares (6). Os mecanismos que explicam esta relação vêm sendo explorados em diversos estudos, a literatura aponta que o aumento dos adipócitos leva a obstrução mecânica dos vasos sanguíneos e conseqüentemente diminuição no aporte de oxigênio gerando uma condição de hipóxia.

A falta de oxigênio na célula adiposa aumenta a expressão do Fator Indutor de Hipóxia 1  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) que pode alterar a expressão de inúmeros genes, dentre eles a Proteína Quimiotática de Monócitos 1 (MCP-1) que irá potencializar a atração de macrófagos para os adipócitos (7). Outra alteração com a instalação de hipóxia é no aumento da translocação do Fator Nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) para a fita de DNA, o que promove a transcrição gênica do Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), uma proteína típica de caráter pró-inflamatório (8). A associação de macrófagos infiltrados e NF- $\kappa$ B na região nuclear pode aumentar consideravelmente a produção de TNF $\alpha$  local e iniciar algumas alterações metabólicas como a resistência à insulina e aumento da lipólise (9). Estas alterações podem desencadear um aumento na circulação sistêmica de ácidos graxos e TNF $\alpha$ , podendo levar a prejuízos metabólicos em outros tecidos como o músculo esquelético e fígado.

Outro aspecto importante que regula a expressão de TNF $\alpha$  no tecido adiposo é a expressão e atividade do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma gama (PPAR $\gamma$ ). Estudos mostram que PPAR $\gamma$  é um fator de transcrição chave para a melhora da sensibilidade à insulina, redução da produção de proteínas inflamatórias e aumento

na expressão de proteínas anti-inflamatórias no tecido adiposo (10, 11). A ativação de PPAR $\gamma$  por drogas sintéticas com as Tiazolidinedionas (TZD) reduz a expressão de TNF $\alpha$  e ainda promove melhora no perfil lipídico e controle glicêmico (12, 13). Sendo assim, intervenções que regulam a expressão de PPAR $\gamma$  pode ser um tratamento eficaz para indivíduos portadores de doenças metabólicas.

Diante disso, a realização do treinamento resistido (TR) pode gerar adaptações importantes para o tratamento de indivíduos que apresentam doenças metabólicas, dentre elas podemos destacar o aumento da massa muscular, melhora da sensibilidade à insulina, capacidade em oxidar ácidos graxos, manutenção ou aumento do gasto energético em repouso e redução da gordura corporal (14-16). Entretanto, ainda não estão totalmente esclarecidos os efeitos crônicos do TR na expressão de proteínas inflamatórias no TA visceral em estado de obesidade e ingestão de dieta hiperlipídica.

A interrupção do treinamento é uma condição frequentemente adotada por praticantes de exercício físico. A literatura mostra que o destreinamento conduz à reversibilidade das adaptações adquiridas (17-19). No tecido adiposo a cessação do treinamento aumenta a formação de novas células adiposas (adipogênese) e capacidade das células em armazenar triacilglicerol acelerando a expansão do TA (20). Este ganho de gordura pode ser crucial para desencadear uma resposta inflamatória e, assim, prejudicar a funcionalidade metabólica do tecido.

Portanto, o objetivo do estudo é analisar os efeitos do treinamento resistido e do destreinamento por 4 semanas sobre a inflamação e expressão de PPAR $\gamma$  no tecido adiposo visceral de ratos alimentados por dieta hiperlipídica.

## **Materiais e Métodos**

### **Animais**

Trinta ratos machos Wistar pesando em torno de 250g com idade de quatro semanas foram obtidos junto ao Biotério Central da UNESP - Câmpus de Botucatu, e permaneceram no Biotério II da FCT / Unesp - Câmpus Presidente Prudente, em gaiolas plásticas (30 x 16 x 19 cm) coletivas. Estes animais permaneceram em grupos de 3 a 5 animais por gaiola, em ambiente com temperatura média de 22 $\pm$ 2°C e ciclo claro/escuro de 12 horas/12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 7:00 h. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animal (CEUA) da FCT / Unesp – Câmpus Presidente Prudente, sob número de protocolo 02/2015. Todos os

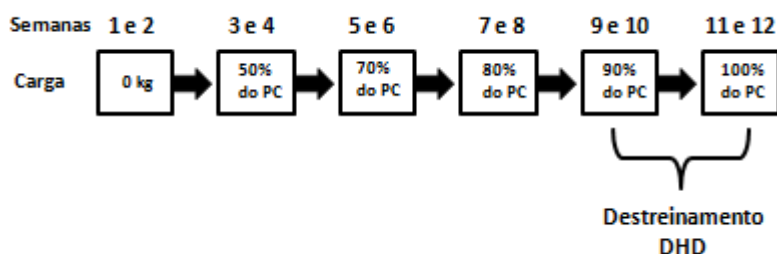
procedimentos foram realizados para minimizar estresse e dor aos animais. Nas gaiolas foram oferecidas condições adequadas para o conforto do animal.

Quando os animais atingiram oito semanas de idade foram iniciados os protocolos de dieta hiperlipídica e TR concomitantemente. Os animais foram divididos em três grupos (n=10 por grupo): Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). Os animais foram alimentados com dieta hiperlipídica composta por salsicha, mortadela, bacon, bolacha doce, refrigerante e ração padrão, numa proporção de 2:2: 2:1:1:1, tendo composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos [33,34] e ração para roedores (marca SUPRA LAB – Alisul Ind. Alimentos Ltda - composição de 25% de proteínas, 3% de lipídeos, 18% de fibras, 11% de minerais, 2% de cálcio e 0,5% de fósforo) com fornecimento de água *ad libitum*, seguindo protocolo adotado em estudos anteriores. O peso corporal (PC) dos animais foi registrado semanalmente.

### **Treinamento Resistido**

Inicialmente foram realizadas 3 sessões de adaptação ao treinamento e aparelho sem adição de carga, sendo realizado apenas 1 série por sessão. O protocolo de TR foi realizado de acordo com o modelo de Tetsuro Tamaki com algumas adaptações (21). O aparelho foi projetado de maneira que o animal ficasse imobilizado vestindo um colete adaptado sobre uma plataforma metálica. A estimulação elétrica foi realizada utilizando um clipe metálico que envolveu a extremidade da cauda do animal ligado a um eletroestimulador do tipo Dualpex 961, da Quarker, calibrado pelo INMETRO. Os parâmetros utilizados foram: Frequência de 1 Hertz (Hz), duração de 0,3s com intervalo de 2s entre cada estimulação elétrica, e a intensidade ajustada de maneira que o animal executasse 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 essa estimulação, o rato realizou o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo), levantando uma carga que era posicionada na região posterior do colete. Os animais realizaram 3 séries de 12 repetições com 1 minuto de intervalo, 3 vezes por semana, por doze semanas. Já os animais do grupo DHD realizaram o mesmo protocolo, porém, a partir da oitava semana houve interrupção do treinamento, caracterizando período de destreinamento por 4 semanas. A carga utilizada na semana 1 e 2 do

treinamento foi equivalente ao Peso Corpóreo (PC), sendo realizada uma progressão na carga a partir da terceira semana adicionando cargas correspondentes a 50% do PC até atingir 100% do PC (Figura 1).



**Figura 1.** Protocolo de treinamento resistido.

### Coleta do material

Após 24 horas da última sessão de treinamento, os animais foram submetidos a um jejum de seis horas. A eutanásia foi realizada por administração de anestésico Tiopental Sódico (60mg/kg PC), e em seguida foi retirado o TA periepididimal, retroperitoneal e mesentérico.

### Expressão Gênica

Para a análise do mRNA foi utilizada a técnica de RT-PCR. O RNA total do TA periepididimal foi isolado com Brazol (LGC Biotecnologia, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante. Após a determinação da concentração do RNA total das amostras foi realizado Ensaio de Transcrição Reversa para a síntese de fita de cDNA. Em seguida, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação dos genes do TNF $\alpha$  (sense 5' TGTGGCTCAGGGTCCAACCTC 3'; antisense 5' TGAGCAGAGCAGCCTGATCC 3', Sequência de referência: NM\_012675.3, 32 ciclos, temperatura de anelamento 60°C), da ACC (sense 5' TGGGGGAAGATGACAGACTC 3'; antisense 5' TGCTGACTGGCATCTACAGG 3', Sequência de referência: NM\_053922, 36 ciclos, temperatura de anelamento 60°C) do HIF-1 $\alpha$  (sense 5' CCCATCCATGTGACCATGAG 3'; antisense 5' TGAGCACCAAGCACGTCATA 3', Sequência de referência: NM\_024359, 36 ciclos, temperatura de anelamento 51°C) e PPAR $\gamma$  (sense 5' ATGGTGCCTTCGCTGATGC; antisense 5' GGCCTGTTGTAGAGTTGGGT 3', Sequência de referência: NM\_013124, 37 ciclos, temperatura de anelamento 62°C). Após a amplificação, as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose e visualizados com

iluminação UV (Kodak Molecular Imaging Software Version 4.0, 2-User e Eletronic UV Transilluminator Ultra. Lum. Inc). A análise densitométrica foi utilizado o programa Scion Image (Scion Corporation, Frederick, Maryland, USA). A expressão do mRNA de TNF $\alpha$ , ACC, HIF-1 $\alpha$  e PPAR $\gamma$  foi normalizada pela expressão do gene que codifica a proteína constitutiva Gliceraldeído 3-Fosfato Desidrogenase (GAPDH sense 5' - CCTGGTATGACAATGAATAGG - 3'; antisense 5' - TCTCTTGCTCTCAGTATCCT - 3', Sequência de referência: AF106860.2, 30 Ciclos, temperatura de anelamento 58°C).

### **Western Blotting**

O TA periepididimal foi homogeneizado em tampão composto por Sacarose 250 mM; Hepes 20 mM; Azida de sódio 5 mM; EDTA 2 mM; Fluoreto de sódio 10 mM; Pirofosfato de sódio 100 mM; Ortovanadato de sódio 10 mM; Ácido Okadaico 1:10000; PMSF e PIC 1:100. Em seguida, os homogeneizados foram transferidos para tubos tipo “ependorf” e centrifugados a 16128 g, por 40 min, a 4°C. A concentração das proteínas foi avaliada pelo método de Bradford (Bio-Rad, Dye Reagent Concentrate), com a leitura das amostras realizada em 595 nm.

Após a dosagem de proteínas totais, 60  $\mu$ g de proteína foram previamente aquecidas por 5 min a 100 °C em uma mistura contendo 0,05 M Tris HCl pH 6,8, 15% glicerol, 0,05 % azul de bromofenol, SDS 10 % e mercapto-etanol 6% (Laemml). Em seguida, as amostras foram aplicadas em gel de poliacrilamida com Gel de empacotamento (4%) contendo acrilamida 30%, Tris 1,0 M (pH= 6,8), SDS (dodecil sulfato de sódio) 10%, APS (persulfato de amônia) 10%, Temed e Água Milli-Q (qsp), e Gel de separação (10 %) constituído por acrilamida 30%, Tris 1,5 M (pH= 8,8), SDS 10%, APS 10%, Temed e Água Milli-Q (qsp). Posteriormente, as amostras foram submetidas à eletroforese em Tampão de corrida (25 mM de Tris – Base, 192 mM de glicina, e SDS 0,1%. A voltagem foi mantida em 40 V até as amostras atravessarem o gel de empacotamento e, em aproximadamente 90 V, durante a passagem pelo gel de separação. Uma alíquota de marcador de peso molecular (Thermo Scientific) foi aplicada em uma das colunas do gel para se estimar a localização da banda correspondente às proteínas de interesse.

Após a eletroforese, realizou-se a transferência das proteínas do gel para uma membrana de PVDF que foi previamente ativada em metanol. A transferência das proteínas do gel para a membrana foi realizada em tampão 25 mM de Tris – Base, 192

mM de Glicina e Metanol 20%. Após a transferência, a membrana foi corada com vermelho Ponceau, por aproximadamente 3 min, para avaliar a qualidade da transferência e utilização desta membrana corada como controle de quantidades semelhantes de amostras aplicadas. Em seguida a membrana foi incubada em solução bloqueadora (0,05 M Tris HCl; Tween 20; NP-40, azida sódica e albumina) durante toda a noite, sob agitação constante e à temperatura de 4 °C. Após o bloqueio das membranas ocorreu incubação com o anticorpo específico: anti-TNF- $\alpha$  da abcam (1:1000) e anti-PPAR $\gamma$  da sigma technologies (1:1000) em solução de bloqueio (1:3) / solução de lavagem (2:3) a 4°C, durante toda a noite, sob agitação constante.

Posteriormente, a membrana foi lavada 4 vezes, por 15 minutos, em solução de lavagem (0,05 M Tris HCl; 1,5 M NaCl; Tween 20; NP-40). Após as lavagens, a membrana foi submetida à incubação com anticorpo secundário *anti-rabbit IgG* (Jackson Immuno Research Lab) diluído na proporção de 1:5000 em solução de bloqueio (1:3)/solução de lavagem(2:3), por 1 h em temperatura ambiente, sob agitação constante. Em seguida, a membrana foi lavada 4 vezes por 15 minutos em solução de lavagem. A detecção das bandas foi obtida por quimiluminescência após exposição das membranas em um equipamento de análise de imagens (Amersham Imager 600 - GE Healthcare Life Sciences), por tempo aproximado de 2 min. A abundância das proteínas foi estimada por meio da análise densitométrica das bandas (método semi-quantitativo) sendo que a expressão proteica de TNF $\alpha$  e PPAR $\gamma$  foi normalizada por Ponceau.

### **Análise estatística**

Os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, após a confirmação da normalidade dos dados através do teste Kolmogorov-Smirnov, foi utilizado o teste ANOVA *one-way* com *post-hoc* de Tukey para a comparação entre os grupos. Valores de P inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significantes. O software utilizado para a análise estatística dos dados foi o SPSS, versão 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

### **Resultados**

A Tabela 1 mostra os resultados de peso corpóreo, ganho de pesos corpóreo ao longo da intervenção e peso de tecido adiposo (periepídimo, retroperitoneal e mesentérico). Nota-se que o TR foi eficiente em evitar ganho de peso corporal e de

tecido adiposo. O grupo DHT apresentou menor peso corporal final, ganho de peso e peso do TA epididimal, retroperitoneal e mesentérico que o grupo DH ( $p < 0,05$ ). A cessação do treinamento resultou no aumento do peso corporal e de tecido adiposo, o grupo DHD apresentou maior ganho de peso, peso corporal final, ganho de peso nas últimas 4 semanas de intervenção e peso de TA epididimal que o grupo DHT ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1.** Peso corporal, ganho de peso e peso absoluto de tecido adiposo periepididimal, retroperitoneal e mesentérico.

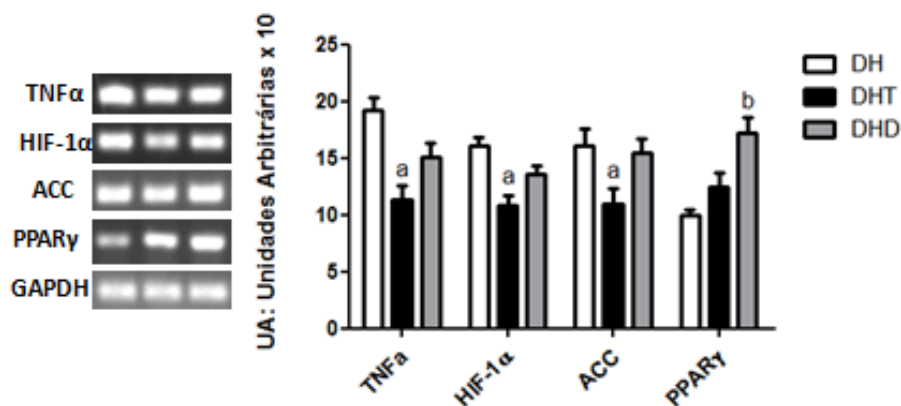
<b>Grupos</b>	<b>DH</b>	<b>DHT</b>	<b>DHD</b>	<b>Valor de p</b>
Peso Inicial (g)	289,5±23,1	284,6±12,9	289,6±30,6	0,86
Peso Final (g)	519,1±36,0	422,1±47,8 <sup>a</sup>	527,7±66,2 <sup>b</sup>	0,0002
Ganho de Peso (g)	229,6±26,6	137,5±49,4 <sup>a</sup>	238,1±62,2 <sup>b</sup>	0,0001
Ganho de peso nas últimas 4 semanas (g)	62,20±13,1	22,70±14,8 <sup>a</sup>	73,33±19,7 <sup>b</sup>	0.0001
TA Periepididimal (g)	14,26±3,8	7,73±3,4 <sup>a</sup>	11,09±6,3	0,0149
TA Retroperitoneal (g)	12,28±2,5	7,23±3,2 <sup>a</sup>	11,40±4,7 <sup>b</sup>	0,0098
TA Mesentérico (g)	4,31±0,8	2,57±0,5 <sup>a</sup>	3,05±2,3	0,0369

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão médio; Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD) n = 10 por grupo. <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH, <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs DHT.

### **Expressão Gênica**

O TR foi capaz de reduzir expressão gênica de TNF $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$  e ACC, o grupo DHT apresentou redução de 40% do gene TNF $\alpha$ , 32% do gene HIF-1 $\alpha$  e 31% do gene ACC ( $p < 0,05$ ). Com o destreino a expressão do gene PPAR $\gamma$  do grupo DHD apresentou aumento de 42% comparado ao grupo DH e 27% comparado ao grupo DHT ( $p < 0,05$ ).

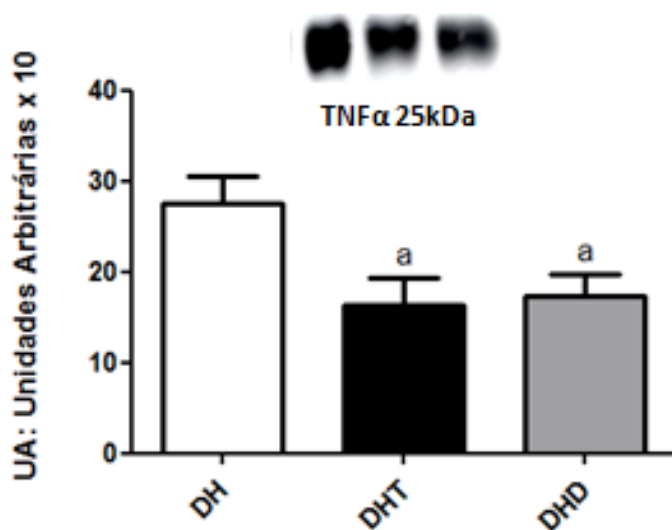




**Fig 2.** Expressão do mRNA de TNF $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ , ACC e PPAR $\gamma$  no TA epididimal. Dieta hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD), <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH. <sup>b</sup>  $<0,05$  vs DHT e DH. Todos os genes foram normalizados pela expressão gênica de GAPDH,  $n = 10$  por grupo.

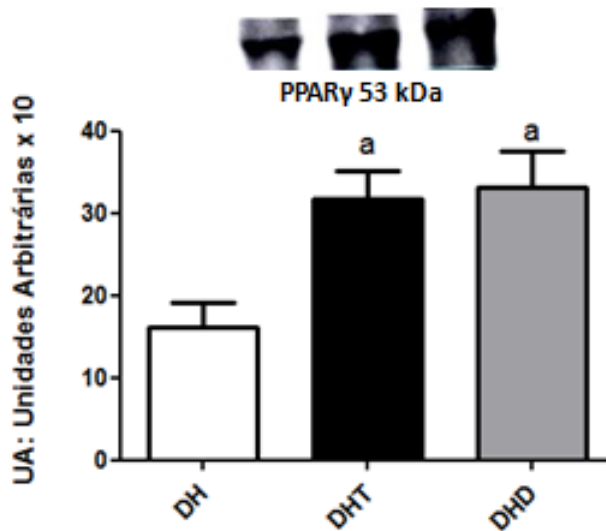
### Expressão de Proteínas

O TR exerceu efeitos positivos na expressão proteica de TNF $\alpha$  (Fig. 3), o grupo DHT apresentou redução de 40% na expressão do gene comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). Mesmo com a cessação do treinamento a expressão proteica de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida, o grupo DHD apresentou redução de 37% na expressão do gene comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 3** Expressão proteica de TNF $\alpha$ /Ponceau no TA epididimal. Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH.

A figura 4 mostra que o TR foi capaz de aumentar 49% a expressão proteica de PPAR $\gamma$  comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ). O grupo DHD que realizou o destreino também apresentou aumento de 51% na expressão de PPAR $\gamma$  comparado ao grupo DH ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 4** Expressão proteica de PPAR $\gamma$ /Ponceau no TA epididimal. Os resultados foram normalizados pelo gel corado com Ponceau. Dieta Hiperlipídica (DH), Dieta Hiperlipídica Treinado (DHT) e Dieta Hiperlipídica Destreinado (DHD). <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs DH.

## Discussão

Os principais achados do nosso estudo foram que o TR pode atenuar o ganho de gordura corporal, a inflamação e expressão de genes envolvidos na hipóxia e lipogênese, além de aumentar a expressão de PPAR $\gamma$  no tecido adiposo visceral periepididimal. Além disso, mesmo com o ganho de adiposidade com a cessação do TR a inflamação local permanece suprimida e a expressão de PPAR $\gamma$  mantém-se elevada, mostrando que o TR pode atenuar prejuízos metabólicos e inflamatórios causados por uma dieta hiperlipídica.

A redução do tamanho dos adipócitos pode ser um fator importante para reduzir a liberação de proteínas inflamatórias pelo TA. Esta redução pode diminuir a obstrução mecânica dos vasos sanguíneos e reduzir a expressão de HIF-1 $\alpha$  permitindo uma melhor oferta de oxigênio para as células. Nossos resultados mostram que o TR reduz a

adiposidade, expressão gênica de ACC e HIF-1 $\alpha$ , podendo ser um dos fatores que colaboram para a redução da proteína TNF $\alpha$ . Suportando nossos resultados, um estudo da literatura mostra que o TR pode reduzir a via lipogênica do TA de ratos que sofreram ovariectomia através da supressão dos genes ACC, Esteril Coa Desaturase (SCD-1) e Proteína 1c de ligação ao elemento de resposta aos esteroides (SREBP-1c), um fator de transcrição que regula a expressão de enzimas da lipogênese (23). O controle de HIF-1 $\alpha$  é fundamental para evitar uma resposta inflamatória no TA, camundongos que não expressam HIF-1 $\alpha$  apresentam menor infiltração de macrófagos e inflamação no TA (24). Os efeitos do TR na expressão de HIF-1 $\alpha$  no TA ainda são poucos explorados na literatura, no entanto, a realização de restrição calórica e exercício aeróbio reduziu a expressão gênica de HIF-1 $\alpha$  e MCP-1, mostrando que intervenções que levam ao balanço calórico negativo pode regular a expressão de HIF-1 $\alpha$  (25, 26).

Já relacionado à inflamação, o TR pode desencadear uma resposta inflamatória durante a sessão (27-29), principalmente através de contrações excêntricas (30). No entanto, nossos resultados mostram que cronicamente a realização do TR mesmo com contrações excêntricas exerceu efeitos positivos atenuando a expressão de TNF $\alpha$  no TA visceral. Corroborando com este resultado a literatura aponta que tanto a realização do TR como a natação pode melhorar o perfil lipídico, reduzir a adiposidade e expressão gênica de TNF $\alpha$  em ratos obesos (31). Nós acreditamos que a redução de TNF $\alpha$  pode ser atribuída pelo fato do TR suprimir hipertrofia dos adipócitos e regular positivamente a expressão de PPAR $\gamma$ . Os efeitos do TR na inflamação no TA visceral ainda vêm sendo pouco explorados, entretanto, alguns estudos mostram eficácia do TR em reduzir a inflamação no músculo esquelético e na circulação sanguínea (22, 32, 33).

Evidências científicas mostram que PPAR $\gamma$  pode regular a expressão de TNF $\alpha$ , sendo alvo de pesquisas para o tratamento da obesidade e disfunções metabólicas. Para nosso conhecimento não existe estudos na literatura mostrando os efeitos do TR na expressão de PPAR $\gamma$  no TA visceral. Entretanto, já existem relatos na literatura mostrando que o treinamento aeróbio pode aumentar a expressão de PPAR $\gamma$  no TA (34, 35). Sendo assim, manter a expressão normalizada de PPAR $\gamma$  no TA é fundamental para regular a inflamação, sensibilidade à insulina e evitar a hipertrofia excessiva de adipócitos, um estudo mostra que PPAR $\gamma$  pode estimular a lipólise no TA e aumentar a expressão gênica da Lipase de triacilglicerol do adipócito (ATGL), Lipase hormônio sensível (HSL) e Lipase de monoacilglicerol (MGL) (36). Camundongos *knockout* para PPAR $\gamma$  apresentam resistência à insulina e hipertrofia excessiva em adipócitos (37).

A hipertrofia dos adipócitos pode induzir efeitos deletérios no metabolismo celular, comprometendo a funcionalidade da célula. O aumento da inflamação pode atenuar o crescimento do tecido adiposo através da redução da adipogênese e resistência a insulina (38). Sabe-se que o TNF $\alpha$  pode reduzir expressão de PPAR $\gamma$  (39). Associado a isso, com o aumento de triacilglicerol ocorre elevação na expressão da Proteína de ligação ao ácido graxo (FABP-4), um transportador de ácido graxo citoplasmático que pode levar à degradação proteossomal de PPAR $\gamma$  (40). Sendo assim, a redução de PPAR $\gamma$  pode culminar na hipertrofia excessiva de adipócitos, aumento de macrófagos do tipo 1 e induzir aumento ainda maior de TNF $\alpha$ . Concomitante a isso, o aumento de HIF-1 $\alpha$  também pode contribuir para o aumento da inflamação através do incremento na translocação de NF-kB para o núcleo celular e a polarização de macrófagos do tipo 1 (41, 42). Nossos resultados mostram que o grupo que ingeriu somente a dieta hiperlipídica apresentou aumento da expressão gênica de HIF-1 $\alpha$ , expressão proteica de TNF $\alpha$  e ainda apresentou redução na expressão de PPAR $\gamma$ . A associação destes fatores mostra os efeitos deletérios no TA visceral com a ingestão de uma dieta hiperlipídica que pode desencadear a gênese de doenças metabólicas.

Outro achado no presente estudo foi que a cessação do treinamento resistido levou ao ganho de peso corporal e adiposidade, entretanto mesmo com o reganho de gordura corporal a expressão de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida e a expressão de PPAR $\gamma$  manteve-se elevada no TA. Alguns estudos mostram que o destreinoamento pode aumentar a expressão de PPAR $\gamma$ , a lipogênese e ainda reduzir a capacidade lipolítica e apoptose celular do TA, favorecendo o acúmulo de triacilglicerol (20, 43, 44). Nossa hipótese é que a permanência elevada da expressão de PPAR $\gamma$  pode atenuar TNF $\alpha$  e, assim, exercer um efeito anti-inflamatório mesmo após a interrupção do treinamento. Além disso, outro fator que pode contribuir para a redução de TNF $\alpha$  é o aumento de Adiponectina que ocorre com o destreinoamento (20). Esta proteína pode reduzir a transcrição de TNF $\alpha$  através do bloqueio na interação do NF-kB com o DNA (45)

A utilização do TR como método de tratamento para indivíduos obesos com alterações metabólicas sem dúvida é essencial. Os estudos nos últimos anos mostram adaptações importantes no metabolismo celular em diversos tecidos que colaboram para a atenuação dos danos com o excesso de gordura corporal e ingestão de uma dieta hiperlipídica. Nosso estudo mostra benefícios com a realização do TR no TA visceral, e que permanecem mesmo com a cessação do TR, sendo indispensável para a prevenção e tratamento de doenças metabólicas desencadeadas pela inflamação sistêmica.

## Conclusão

Portanto, concluímos que o TR exerce efeitos positivos no metabolismo celular do TA visceral, atenuando a expressão de TNF $\alpha$ , ACC e HIF-1 $\alpha$  e evitando a redução na expressão de PPAR $\gamma$  com a ingestão de uma dieta hiperlipídica. Esses resultados mostram a importância da realização do TR para indivíduos obesos com o objetivo de atenuar a resposta inflamatória e alterações metabólicas. Além disso, mesmo com o ganho de gordura corporal pela cessação do treinamento, a expressão de TNF $\alpha$  permaneceu reduzida e PPAR $\gamma$  permaneceu aumentada, mostrando que o destreinamento pode acelerar o ganho de gordura corporal, porém sem desencadear uma resposta inflamatória.

## Referências

1. Gao M, Ma Y, Liu D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119784.
2. Holland WL, Bikman BT, Wang LP, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, et al. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(5):1858-70.
3. Henninger AM, Eliasson B, Jenndahl LE, Hammarstedt A. Adipocyte hypertrophy, inflammation and fibrosis characterize subcutaneous adipose tissue of healthy, non-obese subjects predisposed to type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9(8):e105262.
4. de Queiroz KB, Coimbra RS, Ferreira AR, Carneiro CM, Paiva NC, Costa DC, et al. Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(12):2331-41.
5. DiGirolamo M, Fine JB, Tagra K, Rossmanith R. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. *Am J Physiol*. 1998;274(5 Pt 2):R1460-7.
6. Laforest S, Labrecque J, Michaud A, Cianflone K, Tchernof A. Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2015;52(6):301-13.
7. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh dY, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O2 consumption triggers HIF-1 $\alpha$ , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 2014;157(6):1339-52.
8. Bhattacharya I, Domínguez AP, Dräger K, Humar R, Haas E, Battegay EJ. Hypoxia potentiates tumor necrosis factor- $\alpha$  induced expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in white and brown adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;461(2):287-92.
9. Zhai W, Xu C, Ling Y, Liu S, Deng J, Qi Y, et al. Increased lipolysis in adipose tissues is associated with elevation of systemic free fatty acids and insulin resistance in perilipin null mice. *Horm Metab Res*. 2010;42(4):247-53.
10. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, et al. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat Med*. 2013;19(5):557-66.
11. Chen Z, Vigueira PA, Chambers KT, Hall AM, Mitra MS, Qi N, et al. Insulin resistance and metabolic derangements in obese mice are ameliorated by a novel peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ -sparing thiazolidinedione. *J Biol Chem*. 2012;287(28):23537-48.

12. Corzo C, Griffin PR. Targeting the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  to Counter the Inflammatory Milieu in Obesity. *Diabetes Metab J*. 2013;37(6):395-403.
13. Derosa G, Maffioli P. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) agonists on glycemic control, lipid profile and cardiovascular risk. *Curr Mol Pharmacol*. 2012;5(2):272-81.
14. Alvehus M, Boman N, Söderlund K, Svensson MB, Burén J. Metabolic adaptations in skeletal muscle, adipose tissue, and whole-body oxidative capacity in response to resistance training. *Eur J Appl Physiol*. 2014;114(7):1463-71.
15. Hunter GR, Byrne NM, Sirikul B, Fernández JR, Zuckerman PA, Darnell BE, et al. Resistance training conserves fat-free mass and resting energy expenditure following weight loss. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(5):1045-51.
16. Krisan AD, Collins DE, Crain AM, Kwong CC, Singh MK, Bernard JR, et al. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2004;96(5):1691-700.
17. Mora-Rodriguez R, Ortega JF, Hamouti N, Fernandez-Elias VE, Cañete Garcia-Prieto J, Guadalupe-Grau A, et al. Time-course effects of aerobic interval training and detraining in patients with metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(7):792-8.
18. Correa CS, Baroni BM, Radaelli R, Lanferdini FJ, Cunha GoS, Reischak-Oliveira Á, et al. Effects of strength training and detraining on knee extensor strength, muscle volume and muscle quality in elderly women. *Age (Dordr)*. 2013;35(5):1899-904.
19. Andersen JL, Schjerling P, Andersen LL, Dela F. Resistance training and insulin action in humans: effects of de-training. *J Physiol*. 2003;551(Pt 3):1049-58.
20. Sertie RA, Andreotti S, Proença AR, Campana AB, Lima-Salgado TM, Batista ML, et al. Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. *J Appl Physiol (1985)*. 2013;115(3):394-402.
21. Panveloski-costa AC, Papoti M, Moreira RJ, Seraphim PM. Respostas lactacidêmicas de ratos ao treinamento intermitente de alta intensidade. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2012. p. 122-5.
22. 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.
23. Stotzer US, Rodrigues MF, Domingos MM, Silva GH, Duarte FO, Gatto CV, et al. Resistance training suppresses intra-abdominal fatty acid synthesis in ovariectomized rats. *Int J Sports Med*. 2015;36(3):226-33.
24. Kihira Y, Miyake M, Hirata M, Hoshina Y, Kato K, Shirakawa H, et al. Deletion of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in adipocytes enhances glucagon-like peptide-1 secretion and reduces adipose tissue inflammation. *PLoS One*. 2014;9(4):e93856.
25. Ahn N, Kim K. Combined influence of dietary restriction and treadmill running on MCP-1 and the expression of oxidative stress-related mRNA in the adipose tissue in obese mice. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2014;18(3):311-8.
26. Ko J, Kim K. Effects of exercise and diet composition on expression of MCP-1 and oxidative stress-related mRNA of adipose tissue in diet-induced obese mice. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2013;17(4):181-8.
27. Pereira GB, Tibana RA, Navalta J, Sousa NM, Córdova C, Souza VC, et al. Acute effects of resistance training on cytokines and osteoprotegerin in women with metabolic syndrome. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2013;33(2):122-30.
28. Møller AB, Vendelbo MH, Rahbek SK, Clasen BF, Schjerling P, Vissing K, et al. Resistance exercise, but not endurance exercise, induces IKK $\beta$  phosphorylation in human skeletal muscle of training-accustomed individuals. *Pflugers Arch*. 2013;465(12):1785-95.
29. Buford TW, Cooke MB, Willoughby DS. Resistance exercise-induced changes of inflammatory gene expression within human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2009;107(4):463-71.

30. Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev.* 2005;11:64-85.
31. Speretta GF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino AD, Andre RA, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2012;67(12):1469-77.
32. Zanchi NE, Lira FS, de Siqueira Filho MA, Rosa JC, de Oliveira Carvalho CR, Seelaender M, et al. Chronic low frequency/low volume resistance training reduces pro-inflammatory cytokine protein levels and TLR4 mRNA in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 2010;109(6):1095-102.
33. Phillips MD, Patrizi RM, Cheek DJ, Wooten JS, Barbee JJ, Mitchell JB. Resistance training reduces subclinical inflammation in obese, postmenopausal women. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;44(11):2099-110.
34. Li M, Bai Y, Chen C, Cui J, Xu X, Dai Y. [Effects of exercise and conjugated linoleic acid on PPAR $\gamma$  in adolescent obese rats]. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2015;44(2):179-84.
35. Li M, Bai Y, Jianfei C, Xiaodong X, Yuanyuan D, Jing Z. [Effects of different exercise intensity on PPAR $\gamma$  and relative index in adolescent obesity rats]. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2014;43(5):732-7.
36. Festuccia WT, Laplante M, Berthiaume M, Gélinas Y, Deshaies Y. PPAR $\gamma$  agonism increases rat adipose tissue lipolysis, expression of glyceride lipases, and the response of lipolysis to hormonal control. *Diabetologia.* 2006;49(10):2427-36.
37. He W, Barak Y, Hevener A, Olson P, Liao D, Le J, et al. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor gamma knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(26):15712-7.
38. Gustafson B, Gogg S, Hedjazifar S, Jenndahl L, Hammarstedt A, Smith U. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;297(5):E999-E1003.
39. Cortez M, Carmo LS, Rogero MM, Borelli P, Fock RA. A high-fat diet increases IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  production by increasing NF- $\kappa$ B and attenuating PPAR- $\gamma$  expression in bone marrow mesenchymal stem cells. *Inflammation.* 2013;36(2):379-86.
40. Garin-Shkolnik T, Rudich A, Hotamisligil GS, Rubinstein M. FABP4 attenuates PPAR $\gamma$  and adipogenesis and is inversely correlated with PPAR $\gamma$  in adipose tissues. *Diabetes.* 2014;63(3):900-11.
41. Remels AH, Gosker HR, Verhees KJ, Langen RC, Schols AM. TNF- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation stimulates skeletal muscle glycolytic metabolism through activation of HIF-1 $\alpha$ . *Endocrinology.* 2015;156(5):1770-81.
42. Fujisaka S, Usui I, Ikutani M, Aminuddin A, Takikawa A, Tsuneyama K, et al. Adipose tissue hypoxia induces inflammatory M1 polarity of macrophages in an HIF-1 $\alpha$ -dependent and HIF-1 $\alpha$ -independent manner in obese mice. *Diabetologia.* 2013;56(6):1403-12.
43. Mazzucatto F, Higa TS, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Reversal of metabolic adaptations induced by physical training after two weeks of physical detraining. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(8):2000-8.
44. Yasari S, Dufresne E, Prud'homme D, Lavoie JM. Effect of the detraining status on high-fat diet induced fat accumulation in the adipose tissue and liver in female rats. *Physiol Behav.* 2007;91(2-3):281-9.
45. Lira FS, Rosa JC, Pimentel GD, Seelaender M, Damaso AR, Oyama LM, et al. Both adiponectin and interleukin-10 inhibit LPS-induced activation of the NF- $\kappa$ B pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Cytokine.* 2012;57(1):98-106.

## CONCLUSÃO FINAL

Portanto, concluímos que no músculo esquelético o TR reduziu a expressão de TNF $\alpha$ , aumentou a sensibilidade à insulina e expressão de genes envolvidos na captação de glicose. Já no TA, o TR também reduziu a expressão de TNF $\alpha$  e ainda aumentou PPAR $\gamma$ , evidenciando que o TR exerce um efeito supressivo na inflamação. Além disso, embora a cessação do TR resultar no aumento da adiposidade, isso não foi capaz de desencadear um aumento na inflamação tanto no TA como no músculo esquelético, nossa hipótese é que isto ocorreu devido à manutenção elevada da expressão de PPAR $\gamma$  com o destreinamento. Diante disso, o TR pode ser uma ótima ferramenta para evitar ou tratar distúrbios metabólicos com a ingestão de uma dieta hiperlipídica.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Gao M, Ma Y, Liu D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119784.
2. Morgan K, Uyuni A, Nandgiri G, Mao L, Castaneda L, Kathirvel E, et al. Altered expression of transcription factors and genes regulating lipogenesis in liver and adipose tissue of mice with high fat diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20(9):843-54.
3. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1-2):20-44.
4. Ludgero-Correia A, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA, Faria TS. Effects of high-fat diet on plasma lipids, adiposity, and inflammatory markers in ovariectomized C57BL/6 mice. *Nutrition*. 2012;28(3):316-23.
5. de Queiroz KB, Coimbra RS, Ferreira AR, Carneiro CM, Paiva NC, Costa DC, et al. Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(12):2331-41.
6. Laforest S, Labrecque J, Michaud A, Cianflone K, Tchernof A. Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2015;52(6):301-13.
7. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh dY, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O2 consumption triggers HIF-1 $\alpha$ , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 2014;157(6):1339-52.
8. van der Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC, Hommelberg PP, Kor D, Kloosterhuis NJ, et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging (Albany NY)*. 2015;7(4):256-68.
9. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32 Suppl 2:S157-63.
10. Nguyen MT, Satoh H, Favelyukis S, Babendure JL, Imamura T, Sbodio JI, et al. JNK and tumor necrosis factor-alpha mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*. 2005;280(42):35361-71.
11. Speretta GF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino AD, Andre RA, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67(12):1469-77.



12. Alvehus M, Boman N, Söderlund K, Svensson MB, Burén J. Metabolic adaptations in skeletal muscle, adipose tissue, and whole-body oxidative capacity in response to resistance training. *Eur J Appl Physiol*. 2014;114(7):1463-71.
13. Wang L, Mascher H, Psilander N, Blomstrand E, Sahlin K. Resistance exercise enhances the molecular signaling of mitochondrial biogenesis induced by endurance exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2011;111(5):1335-44.
14. Møller AB, Vendelbo MH, Rahbek SK, Clasen BF, Schjerling P, Vissing K, et al. Resistance exercise, but not endurance exercise, induces IKK $\beta$  phosphorylation in human skeletal muscle of training-accustomed individuals. *Pflugers Arch*. 2013;465(12):1785-95.
15. Buford TW, Cooke MB, Willoughby DS. Resistance exercise-induced changes of inflammatory gene expression within human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2009;107(4):463-71.
16. Correa CS, Baroni BM, Radaelli R, Lanferdini FJ, Cunha GoS, Reischak-Oliveira Á, et al. Effects of strength training and detraining on knee extensor strength, muscle volume and muscle quality in elderly women. *Age (Dordr)*. 2013;35(5):1899-904.
17. Mazzucatto F, Higa TS, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Reversal of metabolic adaptations induced by physical training after two weeks of physical detraining. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(8):2000-8.
18. Sertie RA, Andreotti S, Proença AR, Campana AB, Lima-Salgado TM, Batista ML, et al. Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. *J Appl Physiol (1985)*. 2013;115(3):394-402.
19. Yasari S, Dufresne E, Prud'homme D, Lavoie JM. Effect of the detraining status on high-fat diet induced fat accumulation in the adipose tissue and liver in female rats. *Physiol Behav*. 2007;91(2-3):281-9.