




**Alan José Barbosa Magalhães**

A large, faded background logo of the Faculty of Medicine of UNESP Presidente Prudente. It features a central caduceus (a staff with two snakes entwined around it) in green and yellow, set within an oval frame containing the text "FACULDADE DE MEDICINA" and "UNESP PRESIDENTE PRUDENTE".

**TREINAMENTO RESISTIDO E DESTREINAMENTO: ALTERAÇÕES  
NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E TECIDO HEPÁTICO DE RATOS  
SUBMETIDOS À DIETA NORMOLIPÍDICA E HIPERLIPÍDICA.**

**Presidente Prudente**

**2016**

**Alan José Barbosa Magalhães**

**TREINAMENTO RESISTIDO E DESTREINAMENTO: ALTERAÇÕES  
NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E TECIDO HEPÁTICO DE RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA NORMOLIPÍDICA E HIPERLIPÍDICA.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT/UNESP), Campus Presidente Prudente para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho.

**Presidente Prudente**

**2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Magalhães, Alan José Barbosa.

M164t      Treinamento resistido e destreinamento : alterações na composição corporal e tecido hepático de ratos submetidos à dieta normolipídica e hiperlipídica / Alan José Barbosa Magalhães. - Presidente Prudente : [s.n.], 2016

76 f.

Orientador: José Carlos Silva Camargo Filho

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

Inclui bibliografia

1. Obesidade. 2. Fígado. 3. Exercício. 4. Fisioterapia. I. Camargo Filho, José Carlos Silva. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III. Título.

**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado DE ALAN JOSÉ BARBOSA MAGALHÃES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA.**

Aos 02 dias do mês de junho do ano de 2016, às 09:00 horas, no(a) Anfiteatro VI, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO - Orientador(a) do(a) Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente, Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI do(a) Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP, Prof. Dr. MARIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA do(a) Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE Mestrado de ALAN JOSÉ BARBOSA MAGALHÃES, intitulada **TREINAMENTO RESISTIDO E DESTREINAMENTO: ALTERAÇÕES NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E TECIDO HEPÁTICO DE RATOS SUBMETIDOS À DIETA NORMOLIPÍDICA E HIPERLIPÍDICA**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO

Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI

Prof. Dr. MARIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA

## Sumário

Dedicatória .....	6
Agradecimentos .....	7
Apresentação .....	10
Resumo .....	12
Abstract .....	14
Introdução e Síntese da Bibliografia Fundamental.....	16
Artigo I.....	21
Artigo II.....	43
Considerações Finais.....	69
Referências Bibliográficas .....	70
Anexo: Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais .....	75

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho à minha família, namorada e amigos.

## **Agradecimentos**

Venho por meio desta agradecer:

- Aos meus pais Ivani e Claudemir, meu irmão Danilo e todos os familiares que me apoiaram e deram força sempre em minha vida;
- À minha namorada Isabela, que convive diariamente comigo e está ao meu lado todos os momentos de minha vida, como ótima companheira, sempre carinhosa, me ajudando sempre a crescer como pessoa;
- Ao meu orientador Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho, à Profa. Dra. Regina Celi Trindade Camargo e ao Prof. Ms. Robson Chacon Castoldi, que me deram a primeira oportunidade de iniciar minha jornada no meio acadêmico, minha pesquisa, além de todo o auxílio e conhecimento transmitido na vida profissional e pessoal;
- À Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim e ao Prof. Ms. Rafael Junges Moreira, pela concessão de materiais e grande contribuição para o presente estudo;
- Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei e ao Prof. Dr. Mário Jefferson Quirino Louzada, por aceitar participar da banca avaliadora deste trabalho e pelas grandes contribuições dadas ao presente estudo;
- Aos integrantes do LAPMUS Prof. Ms. Guilherme Akio Tamura Ozaki, Profa. Ms. Tatiane Emy Koike, Thiago Alves Garcia, Guilherme Suniga, Aline Mardegan Mito, William Salles e aos novatos pela convivência, amizade e suas contribuições individuais para este trabalho;
- Ao Ricardo Ribeiro Agostinete (Cielo) e à Ana Paula Rodrigues Rocha, pela parceria, amizade e trabalho coletivo durante as disciplinas do curso de mestrado;

- Ao Prof. Dr. Sérgio Minoru Oikawa, por suas contribuições com as análises estatísticas;
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa;
- E a todos os amigos e companheiros na Unesp, presentes em mais esta etapa de minha vida acadêmica.



*“Algumas regras para a vida:*

- Questione a autoridade;*
  - Nenhuma ideia é verdadeira só porque alguém diz que é, incluindo eu;*
  - Pense por si próprio, questione a si próprio;*
  - Não acredite em algo só porque quer acreditar, acreditar em algo não o torna verdadeiro;*
  - Teste ideias pelas evidências adquiridas, pela observação e experimentação;*
  - Se uma ideia prevalecente falhar num teste bem desenvolvido, esta errada. Supere;*
  - Deixe os amigos imaginários em casa;*
  - Siga as evidências onde quer que elas levem, se não houver evidências, evite julgamento;*
- E talvez a regra mais importante de todas:*
- “Lembre-se, você pode estar errado.”*

**(Neil DeGrasse Tyson)**

## **Apresentação**

Esta dissertação segue o modelo alternativo, originados de pesquisa intitulada: **Treinamento Resistido e Destreino: Alterações na Composição Corporal e Tecido Hepático de Ratos Submetidos a Uma Dieta Normolipídica e Hiperlipídica**, no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular do Departamento de Fisioterapia, da FCT/UNESP (Campus de Presidente Prudente).

Em consonância com as regras do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, os artigos foram redigidos de acordo com as normas dos periódicos *International Journal of Morphology* (disponível no link: <http://www.scielo.cl/revistas/ijmorphol/pinstruc.htm>) e *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* (disponível no link: <http://www.scielo.br/revistas/abem/pinstruc.htm>). O presente trabalho está dividido nas seguintes sessões:

- **Resumo;**
- **Abstract;**
- **Introdução:** para contextualização do assunto estudado;
- **Artigo I: Treinamento resistido e destreino não alteram a adiposidade epididimal de ratos, mas promovem efeito de proteção no tecido hepático.** Alan José Barbosa Magalhães; Regina Celi Trindade Camargo; Rafael Junges Moreira; Patrícia Monteiro Seraphim; Sergio Minoru Oikawa; José Carlos Silva Camargo Filho.

- **Artigo II: Quais alterações o treinamento resistido e o destreinamento geram sobre a adiposidade epididimal e tecido hepático de ratos submetidos à dieta hiperlipídica e normolipídica?** Alan José Barbosa Magalhães; Regina Celi Trindade Camargo; Rafael Junges Moreira; Patrícia Monteiro Seraphim; Sergio Minoru Oikawa; José Carlos Silva Camargo Filho.
- **Considerações Finais;**
- **Referências Bibliográficas;**
- **Anexo:** Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais.

## Resumo

Atualmente, o consumo de dieta hiperlipídica têm contribuído para aumento no número de casos de obesidade, gerando principalmente aumento no massa corporal, no armazenamento de Tecido Adiposo Epididimal (TecAdp) e triglicerídeos intra-hepáticos (TGIH), que contribui para o surgimento de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). O treinamento resistido apresenta-se como uma intervenção não farmacológica eficaz para reduzir os efeitos deletérios da obesidade. No entanto, o destreinamento proporciona perda dos benefícios adquiridos pelo treinamento resistido. Logo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do treinamento resistido e destreinamento sobre o tecido hepático e composição corporal de ratos submetidos à dieta normolipídica e hiperlipídica. Foram obtidos 60 ratos machos Wistar, divididos em grupos Controle e Obeso, também divididos nos subgrupos CS, CE, CS(6), CD, OS, OE, OS(6) e OD, que realizaram treinamento resistido com saltos, com três séries de 12 repetições, três vezes por semana, durante oito semanas. Os grupos CS, CE, OE e OS foram eutanasiados, enquanto que os grupos CS(6), CD, OS(6) e OD realizaram o protocolo de destreinamento de oito semanas. Logo após o destreinamento, os grupos restantes também foram eutanasiados, com mensuração de massa corporal e comprimento, além da retirada do TecAdp para análise de ganho de massa corporal, TecAdp percentual e total, Índice de Lee e Índice de Massa Corporal (IMC). Também foi retirado o lobo superior direito do fígado, para análise cariométrica e estereológica, utilizando coloração por hematoxilina e eosina (HE). Houve diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) nos valores de massa do fígado de CE em relação à OD e de OS(6) em relação a todos os grupos; maior ganho de massa

corporal de OS(6) em relação à CE; em TecAdp (g), TecAdp (%) e IMC dos subgrupos OS(6) e OD em relação à CE e CD; na análise cariométrica nas variáveis diâmetro menor, diâmetro médio, volume, área, coeficiente de forma e índice de contorno dos subgrupos CE e CD em relação à E e OD; na estereologia e índice de Lee não foram encontradas diferença entre os grupos. Concluímos que o treinamento resistido demonstrou melhores efeitos sobre o tecido hepático de CD em relação a OE e OD e na composição corporal de CE e CD em relação a OS(6) e OD.

**Palavras-chave:** Obesidade, Fígado, Composição Corporal, Exercício, Histologia.

## **Abstract**

Actually, the consumption of hyperlipidic diet have contributed to increase obesity in world, mainly generating increase in body weight, the storage epididymal adipose tissue (EAT) and intrahepatic triglycerides (IHTG), which contributes to Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). Resistance training is presented as a non-pharmacological intervention effective in reducing the harmful effects of obesity. However, detraining provides loss of benefits acquired by resistance training. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of resistance training and detraining on the liver tissue and body composition of rats subjected to normolipidic and hyperlipidic diet. Sixty male Wistar rats were obtained, divided into groups Control and Obese, also divided into subgroups SC, EC, SC(6), DC, SO, EO, SO(6) and DO, who performed resistance training with jumps, with three series 12 repetitions, three times per week for eight weeks. The groups SC, EC, EO and SO were euthanized, while the SO(6), DC, SO(6) and the DO performed eight weeks detraining protocol. Soon after detraining, the other groups were also euthanized with measurement of weight and length, and the withdrawal of EAT for weight gain analysis, EAT percentage (%) and total (g), Lee Index and Body Mass Index (BMI). Also the upper right lobe of the liver was removed for kariometric and stereological analysis, using hematoxylin and eosin (HE). There were statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) in the EC liver weight values to DO and SO(6) to all groups; the greater weight gain of SO(6) to EC; in EAT (g), EAT (%) and BMI subgroups OS(6) and DO to EC and DC; in kariometric analysis in smaller diameter, mean diameter, volume, area, shape coefficient and contour index of the EC and DC subgroups to SO(6) and DO; in stereology and Lee Index, there were no differences between the

groups. We conclude that intermittent training showed better effects on the DC liver tissue compared to EO and SO(6) and EC and DC body composition when compared to SO(6) and DO.

**Keywords:** Obesity, Liver, Body Composition, Exercise, Histology.

## **Introdução e Síntese da Bibliografia Fundamental**

Um dos grandes problemas de saúde pública mundial é a obesidade, definida pelo aumento de gordura corporal, caracterizada não só pelo aumento de peso corporal, mas também pelo acúmulo excessivo de lipídeos em células adiposas pelo corpo, em função da alta ingestão de gordura na alimentação.<sup>1,2</sup>

Alguns índices antropométricos, como o Índice de Massa Corporal (IMC), Circunferência Abdominal (CAb) e Percentual de Gordura Corporal (%GC) são utilizados para caracterizar indivíduos obesos. Sujeitos com IMC igual ou superior a trinta, combinado com circunferência abdominal acima de 102 cm para homens e 88 cm para mulheres e %GC de 25 – 30% para homens e 35 – 40% para mulheres são considerados obesos.<sup>3,4,5</sup>

Fatores como urbanização, globalização, renda e a falta de tempo para preparo de uma refeição saudável levam ao consumo de alimentos industrializados ou altos níveis calóricos<sup>6</sup>, que contribuem fortemente para o aumento da gordura corporal, e conseqüentemente, o surgimento da obesidade. A dieta ocidentalizada ou dieta de cafeteria possui alto índice calórico e baixo valor nutricional, além de ser uma dieta palatável e de fácil acesso.<sup>7</sup> Este tipo de alimentação é um modelo de dieta que induz à obesidade e resistência à insulina.<sup>8</sup>

No Brasil, aproximadamente 82 milhões de pessoas apresentam IMC igual ou superior a 25, sendo que 55,6% dos homens e 58% das mulheres apresentam-se com excesso de peso.<sup>9</sup> Este fator de risco para a saúde vem aumentando entre os adultos desde a década de 1970, quando o índice de excesso de peso era de 18,5% para homens e 28,7% para mulheres.<sup>10</sup>



De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), um a cada cinco brasileiros da população adulta com 18 anos ou mais (20,8%) sofre de obesidade, sendo uma em cada quatro mulheres (24,4%) e um em cada seis homens (16,8%).<sup>9</sup>

O aumento de tecido adiposo gerado pela obesidade estimula o surgimento de um grupo de anormalidades que envolvem dislipidemia e hipertensão arterial, ocasionando a síndrome metabólica, e tardiamente o Diabetes Mellitus tipo 2.<sup>11,12</sup>

O tecido adiposo produz uma quantidade relativamente grande de TNF- $\alpha$  (Fator de Necrose Tumoral Alfa), uma citocina pró-inflamatória, que em longo prazo pode ser responsável pelo surgimento de doenças crônicas.<sup>13</sup> Porém apenas uma parte do TNF- $\alpha$  derivado do tecido adiposo se origina do próprio adipócito; a outra parte pode ser secretada por macrófagos infiltrados no tecido, fato este particularmente importante na obesidade.<sup>14</sup>

A obesidade é associada com aumento no risco do desenvolvimento de Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica (DHGNA), sendo a esteatose um importante marcador desta doença.<sup>15</sup> O fígado possui importante função durante o período de repouso e exercício físico, tendo em vista que a mobilização de glicose, ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e gliconeogênese é promovida pelo fígado durante o exercício, de modo a viabilizar as necessidades metabólicas demandadas pela a contração muscular, principalmente em exercícios de alta intensidade.<sup>16</sup>

A DHGNA é uma condição composta por anormalidades no fígado que tem como característica um aumento na concentração de triglicerídeos intra-hepáticos (TGIH), ou seja, esteatose, com ou sem inflamação ou fibrose, inflamação lobular, degeneração hidrópica, cirrose e esteatohepatite não-alcoólica (EHNA), podendo

também gerar radicais livres e peroxidação de lipídios, sendo diferenciada apenas por meio de biópsia do fígado.<sup>17,18,19,20</sup>

A progressão da DHGNA é regulada negativamente pela deficiência de NLRP3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors 3) e NLRP6 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors 6) na flora intestinal e pela ação de IL-18 (Interleucina 18), em função do influxo de agonistas de TLR4 (toll-like receptors 4) e TLR9 (toll-like receptors 9) através da circulação portal, levando a um aumento da expressão de TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ) que promove a DHGNA.<sup>21</sup>

Para o tratamento de DHGNA, intervenções farmacológicas, mudanças no estilo de vida, como a prática de exercícios físicos e a implementação de uma dieta balanceada, trazem resultados positivos em casos de acúmulo de gordura no tecido hepático<sup>22</sup>.

O exercício físico caracteriza-se principalmente pela contração do músculo esquelético. A energia é acumulada em forma de adenosina trifosfato (ATP), onde a quebra de ATP do músculo fornece energia para exercícios de diferentes intensidades e durações, por vias glicolíticas e aeróbias para produção energética<sup>16</sup>.

Em exercícios de baixa intensidade e longos períodos de duração, predomina a utilização de ácidos graxos. Já em exercícios de alta intensidade e curtos períodos de duração que promovem aumento de trofismo, predomina a utilização de glicose. Exercícios que envolvam grandes grupos musculares, alta intensidade, grande volume e menores intervalos de recuperação promovem maior dispêndio energético<sup>16</sup>, gerando maior concentração de lactato pós-exercício, o que foi associado à maior demanda anaeróbia do exercício.<sup>23</sup>

A contração muscular durante o exercício de força estimula a expressão de IL-6, induzindo à lipólise e oxidação de ácidos graxos livres, auxilia na promoção da homeostasia glicêmica durante o exercício e estimula a síntese de IL-1ra, TNF-R e IL-10, inibindo a síntese de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , que têm ação pró-inflamatória.<sup>24</sup>

O treinamento resistido diminui o tecido adiposo visceral, lipídio intra-muscular e age na perda de peso corporal e promove maior sensibilidade à insulina. Quando intervalado e combinado com o exercício aeróbio, o exercício de força promove diminuição na gordura corporal, melhorias no perfil lipídico e glicêmico<sup>25,26,27</sup>, além de proporcionar benefícios também para o tecido muscular esquelético, cardíaco e ósseo.<sup>28</sup>

Um programa intenso treinamento de resistido pode colaborar com a redução de gordura do fígado de pacientes com DHGNA, levando a melhorias significativas na atividade tecidual hepática.<sup>29</sup> Além disso, prática de exercício físico atenua o desenvolvimento de fibrose hepática, inflamação e infiltração de macrófagos causados pela ingestão de dieta hiperlipídica.<sup>30</sup>

O treinamento resistido é eficaz no tratamento da obesidade diminuindo o peso corporal, quadro de inflamação crônica através da produção de miosinas anti-inflamatórias, diminuição na produção de miosinas e citocinas pró-inflamatórias, obesidade abdominal, fatores de risco para doenças cardiovasculares, redução da concentração plasmática de lipídios, além da redução da inflamação do tecido adiposo.<sup>31,32,33</sup>

No entanto, a interrupção de um protocolo de treinamento físico, denominado destreinamento, pode ser prejudicial para a manutenção dos benefícios adquiridos pelo exercício praticado, principalmente quanto a diminuição de atividade lipolítica,

diminuição do metabolismo basal, além da interrupção do ganho progressivo de trofismo em função do exercício físico.<sup>34,35</sup>

Logo, o exercício apresenta-se como alternativa de tratamento para obesidade e seus efeitos sobre a composição corporal e sobre o tecido hepático. No entanto, o destreinamento apresenta riscos quanto à redução dos efeitos benéficos proporcionados pelo exercício.

Neste sentido, o objetivo do presente estudo é verificar alterações do treinamento resistido seguido de destreinamento sobre a composição corporal e tecido hepático de ratos submetidos a uma dieta normolipídica e hiperlipídica.

Hipotetiza-se que com base no que a literatura apresenta em relação ao tema, que o treinamento resistido possa promover melhor preservação da condição saudável do tecido hepático e da composição corporal de animais treinados em relação a animais sedentários. Esta preservação do tecido hepático e composição corporal pode também apresentar-se mais evidente em animais dos grupos controle em relação a animais dos grupos obeso.

## Artigo I

### Artigo Original

#### **Treinamento resistido e destreinamento não alteram a adiposidade epididimal, mas promovem efeito de preservação no tecido hepático de ratos**

Alan José Barbosa Magalhães<sup>1</sup>; Regina Celi Trindade Camargo<sup>2</sup>; Rafael Junges Moreira<sup>3</sup>; Patrícia Monteiro Seraphim<sup>1,2</sup>; Sergio Minoru Oikawa<sup>4</sup>; José Carlos Silva Camargo Filho<sup>1,2</sup>.

1 Programa de Pós Graduação em Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente). 2 Departamento de Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente). 3 Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo. 4 Departamento de Matemática e Computação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente).

Endereço para correspondência:

Alan José Barbosa Magalhães

Rua Roberto Simonsen, 305

Centro Educacional, CEP: 19060-900

Presidente Prudente – SP, Brasil

ajb\_magalhaes@yahoo.com.br

## **Treinamento resistido e destreinamento não alteram adiposidade epididimal, mas promovem efeito de proteção no tecido hepático de ratos**

**Resumo:** O treinamento resistido demonstra eficácia na redução de triglicerídeo intra-hepático, massa corporal e adiposidade epididimal. Entretanto, o destreinamento pode minimizar os benefícios proporcionados pelo exercício. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de um protocolo de treinamento resistido seguido de destreinamento sobre a composição corporal e tecido hepático de ratos. Foram obtidos 30 ratos machos da raça Wistar com 60 dias de idade, divididos em grupos Sedentário (S), Exercício (E), Sedentário de seis meses de idade (S(6)) e Destreinado (D), que realizaram treinamento resistido por meio de saltos, por eletroestimulação, com três séries de 12 repetições, três vezes por semana, durante oito semanas. Ao final do período de treinamento, realizaram um protocolo de destreinamento de oito semanas, sem a realização de exercícios físicos. Em seguida, os animais foram eutanasiados, no qual foram mensurados massa corporal e altura, além de retirado o tecido adiposo epididimal, para análise da gordura visceral e o fígado para processamento histológico e coloração em hematoxilina e eosina (HE) para a realização da análise cariométrica e estereológica. Não foram encontradas diferenças significantes quanto à massa corporal final, composição corporal e na análise histológica. Na análise cariométrica, verificou-se diferença estatisticamente significante variáveis diâmetro médio, volume e área S(6) em relação à D. Conclui-se que o treinamento resistido preservou o núcleo dos hepatócitos do grupo D mesmo após um protocolo de destreinamento, quando comparado ao grupo S(6), onde S(6) apresentou um núcleo de hepatócito menor. Porém, não houve diferença significativa quanto à composição corporal entre os grupos.

**Palavras-chave:** Fígado, Adiposidade, Exercício, Cariometria, Anatomia & Histologia.

**Abstract:** Resistance training has been shown to effectively reduce intrahepatic lipid, body weight and epididymal fat. However, detraining can minimize the benefits provided by exercise. This study aims to evaluate the effect of a resistance training protocol and detraining protocol on body composition and liver tissue of rats. Were obtained 30 male rats Wistar, divided into Sedentary group (S), Exercise (E), Sedentary six months old (S(6)) and Detrained (D) who performed resistance training through jumps, by electrostimulation, with three sets of 12 repetitions three times per week for eight weeks. At the end of the training period, they conducted an eight-week detraining protocol without conducting physical exercises. Then the animals were euthanized, which were measured weight and height, and removing the epididymal adipose tissue for analysis of visceral fat and the liver for histological analysis and stained with hematoxylin and eosin (HE) for the analysis and cariométrica and stereological. No significant differences were found on the final body weight, body composition and histological analysis. The kariometric analysis showed a statistically significant difference between the groups S(6) and D in the variables mean diameter ( $p=0.018$ ), volume ( $p=0.028$ ) and area ( $p=0.030$ ). In conclusion, resistance training provided conservation on the liver cell nucleus of D group hepatocytes even after a detraining protocol, compared to group S(6). However, there was no significant difference in body composition between the groups.

**Keywords:** Liver, Adiposity, Exercise, Cariometria, Anatomy and Histology.

## **Introdução**

A prática de exercício físico gera resultados benéficos sobre a composição corporal, pois o treinamento aeróbio e o treinamento resistido diminuem o tecido adiposo visceral, lipídio intra-hepático e age na perda de massa corporal, além de promover maior sensibilidade à insulina<sup>1</sup>.

O treinamento resistido promove diminuição na gordura corporal, melhorias no perfil lipídico e glicêmico de animais obesos<sup>2</sup>. Animais que praticaram treinamento resistido obtiveram redução no risco de doenças cardiovasculares e redução da gordura corporal quando comparados com animais sedentários, além de impedir ou atenuar o desenvolvimento da obesidade<sup>3</sup>.

Foi proposto que protocolo de treinamento de força de maior intensidade metabólica é aquele que possui maior volume e intensidade de trabalho com um menor tempo de recuperação entre séries<sup>4</sup>. Durante o treinamento resistido, a mobilização de glicose e ácidos graxos não-esterificados (NEFA) e gliconeogênese são promovidas pelo fígado, para que possa ocorrer a produção energética necessária para a contração muscular, principalmente em exercícios de alta intensidade<sup>5</sup>.

Evidências têm mostrado que o treinamento resistido apresenta-se efetivo para reduzir os marcadores inflamatórios provenientes da obesidade, obesidade abdominal, redução de massa corporal e redução dos níveis plasmáticos de lipídios<sup>6</sup>. No entanto, a interrupção da prática de treinamento físico, denominada destreinamento, pode proporcionar aumento na massa corporal, menor depleção de triacilglicerídeos, além de interrupção do ganho de trofismo proporcionado pelo exercício<sup>7</sup>.

É importante enfatizar possíveis alterações sobre o tecido hepático e composição corporal em ratos Wistar proveniente da prática de um protocolo de treinamento resistido e possíveis efeitos do destreinamento sobre estas estruturas, tendo em vista possíveis implicações clínicas destas mesmas variáveis que possam ser abordadas em sujeitos sedentários ou que interrompem suas atividades físicas. Nesse sentido, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de um protocolo de treinamento resistido seguido de destreinamento sobre a composição corporal e tecido hepático de ratos. Hipotetiza-se que o treinamento resistido possa promover melhor preservação do tecido hepático e da composição corporal em relação a animais sedentários, mesmo após o período de destreinamento.

## **Métodos**

### *Delineamento Experimental*

Os animais foram subdivididos em quatro grupos (sedentário, exercitado, sedentário com seis meses de idade e destreinado), para a aplicação dos respectivos protocolos de treinamento e destreinamento. Ao final dos respectivos protocolos, os animais foram eutanasiados para coleta do material a ser analisado.

### *Animais*

Foram obtidos junto ao Biotério Central da FMB/UNESP de Botucatu 30 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, mantidos em gaiolas plásticas coletivas. Estes animais permaneceram em grupos de três a cinco animais por gaiola, no biotério do Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente, sob temperatura média de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às sete horas, alimentados com ração padrão e água de torneira fornecida ad libitum. A massa corporal dos animais foi registrado no início, semanalmente e ao final do período experimental. Estes foram separados aleatoriamente, formando os seguintes grupos:

### **Figura 1 (inserir aqui)**

O grupo S foi dividido em dois subgrupos: S e S(6). Com o grupo E ocorreu semelhante subdivisão: E e D (Figura 1). Todos os procedimentos obedeceram aos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEUAS - FCT – UNESP, Campus de Presidente Prudente, protocolado sob o nº 004/2011.

### *Treinamento Resistido*

### *Modelo de Treinamento*



O modelo de treinamento resistido de força foi do tipo “jump squat”<sup>8</sup>, com algumas adaptações. O aparelho permite que o animal permaneça imobilizado por um colete adaptado sobre uma plataforma metálica.

O salto foi realizado através de uma estimulação elétrica, que foi realizada utilizando-se clipe metálico preso à extremidade da cauda do animal ligado a um eletroestimulador modelo Dualpex 961, da Quarker®, calibrado pelo INMETRO®, calibrado com frequência 1 Hertz (Hz), duração de 0,3s com intervalo de 2s entre cada estimulação elétrica e a intensidade variando de 3 a 6 miliamperes (mA), ajustada de acordo com cada animal, para que execute o movimento (Figura 2).

### **Figura 2 (inserir aqui)**

Estes parâmetros foram adotados por serem pulsos que não apresentam efeitos eletrolíticos, de modo que por maior que seja a duração do treinamento, os estímulos podem ser aplicados sem risco de lesão tecidual.

Com esta estimulação os animais realizaram o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo), levantando uma carga que foi posicionada na parte posterior do colete. O movimento “jump squat” foi testado e validado como indutor de hipertrofia em animais semelhante à hipertrofia obtida em humanos levantadores de peso.<sup>9</sup> Este modelo de treinamento foi validado como de alta intensidade por Panveloski-Costa et al. (2012).<sup>10</sup>

O protocolo de treinamento foi realizado no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFis), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente, composto de três séries de 12 repetições, com intervalo de 60 segundos entre as séries, três vezes por semana, com intervalo de 24 horas entre cada dia de treinamento, durante 60 dias. Foram realizadas três sessões de adaptação ao treinamento na primeira semana sem utilização de carga, com uma, duas e três séries de 12 repetições do primeiro ao terceiro dia respectivamente.

O período de familiarização ocorreu nas duas primeiras semanas, os animais realizaram o treino sem incremento de carga. A partir da terceira semana, uma carga equivalente a 50% da massa corporal foi imposta, até o final do protocolo de treinamento, sendo ajustada semanalmente de acordo com as variações da massa corporal do animal.<sup>11</sup> Este protocolo de treinamento iniciou-se quando os animais atingiram a idade adulta jovem (aos 60

dias de idade). Ao final do protocolo de treinamento iniciou-se o período de destreino para os animais do grupo Ed, onde os animais permaneceram por mais oito semanas sem realizar nenhum tipo de treinamento físico, assim como os animais do grupo S(6).

### *Procedimento Cirúrgico*

Os animais dos grupos S e E foram eutanasiados 24 horas após a última sessão de treinamento resistido. Já os animais dos grupos S(6) e D foram eutanasiados 24 horas após o último dia de destreino. Foram mensurados o comprimento e massa corporal, para calcular o ganho de peso corporal ( $\Delta P = \text{peso final} - \text{peso inicial}$ ).

Em seguida, os animais foram anestesiados, utilizando-se a associação de dois fármacos (cloridrato de xilasina e cloridrato de ketamina 1:1; 40mg/kg da massa corporal) por via intraperitoneal, seguida de parada cardíaca induzida perfusão do ventrículo esquerdo com 1ml de KCl a 10% até a parada cardíaca em diástole.

Realizada esta etapa, foi feita uma incisão paramedial no abdômen, com rebatimento do tecido epitelial até a exposição dos órgãos. Logo após a incisão, foi retirado o tecido adiposo epididimal, que foi pesado em balança de precisão, e o fígado do animal, para extração do lobo superior direito, padronizado para ser analisado em todos os animais, fixado imediatamente em solução de formalina 10%. Após 24h, este órgão foi transferido para frascos com álcool 70%. Esta solução foi renovada por três dias, conforme a eliminação dos resíduos do fixador.<sup>12</sup>

### *Avaliação de Composição Corporal*

#### *Índice de Lee*

Foi calculado utilizando a relação entre raiz cúbica da massa corporal em gramas (g) pelo comprimento focinho-cóccix (cm) e multiplicando-se por 10.<sup>13</sup>

#### *Índice de Massa Corporal*

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado pela fórmula: Massa Corporal (g) / [Comprimento cabeça-nádega (mm)<sup>2</sup>].<sup>14</sup>

#### *Tecido Adiposo Epididimal*

Para a análise dos dados, foi determinado o percentual do tecido adiposo epididimal (TecAdp) em relação à massa do animal pela fórmula matemática:  $\{[\text{TecAdp (g)} \times 100] / \text{Massa Corporal (g)}\}$ . Tal procedimento foi estabelecido como forma de correção da diferença da massa corporal entre os animais.<sup>15</sup>

### *Avaliação do Tecido Hepático*

#### *Morfologia Tecdual*

O preparo das peças e análises das lâminas foi realizado no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente. Após a fixação e a permanência em álcool 70%, foi realizado o procedimento para inclusão do material em parafina e posterior corte em micrótomo rotatório Microm® HM 325, com cortes transversais medindo exatamente 6µm de espessura. A coloração foi realizada com Hematoxilina e Eosina (HE).<sup>16</sup>

#### *Cariometria e Estereologia do Tecido Hepático*

As imagens do tecido hepático dos animais foram obtidas por meio de um microscópio óptico Nikon® 50i, objetiva com aumento de 1000x e com acoplamento de câmera digital Nikon® Infinity 1, com captura de imagens por meio de um software de análise de imagens computadorizadas NIS-Elements D 3.0 - SP7 – build 547, Nikon® for Windows®.

A análise cariométrica foi realizada por meio do software de análise de imagens computadorizadas Image-Pro Plus 4.5.0.29 For Windows® 98-NT-2000, da Media Cybernetics Inc. Foram contabilizados nas imagens 100 núcleos de hepatócitos por animal, onde foi traçado uma linha sobre o maior diâmetro e outra sobre o menor diâmetro. Logo após, estes valores foram colocados em equações<sup>17</sup>, fornecendo os seguintes parâmetros: Diâmetro Maior, Diâmetro Menor, Diâmetro Médio, Perímetro, Relação Diâmetro Maior e Menor, Volume, Área, Relação Volume/Área, Coeficiente de Forma, Índice de Contorno e Excentricidade. Especificamente no tecido hepático, o diâmetro menor é localizado na intersecção do diâmetro maior, na menor extremidade do núcleo do hepatócito. A unidade de medida para os valores foi o micrômetro (µm).

Para o estudo estereológico foram obtidas 20 imagens de cada animal componente dos grupos, sendo delimitados os campos a serem analisados. Com um software de análise de

imagens computadorizadas (ImageJ® 1.47t for Windows® do National Institute of Health - USA), foram inseridos um *grid* de Sistema-Teste de linhas horizontais e verticais com 36 pontos (para delimitar a área-teste) e um *grid* sobreposto com 100 *crosses* (do qual foi realizada a contagem das estruturas).<sup>18</sup>

Foi contabilizado tão somente os pontos-teste (cross) que tocavam a estrutura celular dos hepatócitos, dentro de um campo (área-teste delimitada pelo sistema teste). O padrão foi realizado no citoplasma, núcleo e matriz extracelular dos hepatócitos. A projeção foi realizada em 20 campos diferentes, com 100 pontos-teste cada para campo, totalizando 2000 pontos por animal dos grupos. Após estes procedimentos, os parâmetros obtidos foram: Volume (Celular, Citoplasmático, Nuclear e Matricial), Relação Núcleo/Citoplasma e Densidade Celular Numérica. A unidade de medida utilizada para os valores foi o micrômetro ( $\mu\text{m}$ ).

#### *Análise Estatística*

Para comparação estatística dos resultados de composição corporal morfométricos obtidos nos grupos, foi utilizado o Teste de Levene para a verificação da normalidade dos dados, Teste ANOVA One Way e Pós-Teste de Tukey para dados paramétricos e o Teste Kruskal-Wallis e Pós-Teste de Dunn para dados não-paramétricos, para a comparação dos resultados. Todos os procedimentos adotaram o valor de significância de ( $p < 0,05$ ). Os cálculos foram realizados utilizando-se o software IBM SPSS 22.0 for Windows® e o software Origin versão 9.0® for Windows® para elaboração de gráficos.

#### **Resultados**

A figura 3 apresenta imagens do tecido hepático de cada grupo, com coloração por HE, utilizando aumento de 1000x. As setas apontam para o núcleo dos hepatócitos.

#### **Figura 3 (inserir aqui)**

A figura 4 mostra o ganho de massa corporal dos animais durante o período experimental.

#### **Figura 4 (inserir aqui)**

Nota-se na figura 4 que apesar de todos os grupos apresentarem evolução em seu ganho de peso corporal, nenhum grupo apresentou maior ganho de peso em relação ao outro.

A tabela 1 mostra os valores correspondentes à composição corporal e massa do fígado dos grupos estudados.

#### **Tabela 1 (inserir aqui)**

Na tabela 1, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de massa do fígado e valores de composição corporal dos grupos.

Na tabela 2, encontram-se os valores cariométricos do núcleo dos hepatócitos dos grupos.

#### **Tabela 2 (inserir aqui)**

Na tabela 2, verificou-se diferença estatisticamente significante entre os grupos S(6) e D nas variáveis diâmetro médio ( $p=0,018$ ), volume ( $p=0,028$ ) e área ( $p=0,030$ ), o que denota um núcleo do hepatócito de S(6) menor em relação à D.

Na tabela 3, encontram-se os valores estereológicos do tecido hepático dos grupos.

#### **Tabela 3 (inserir aqui)**

Na tabela 3, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis estereológicas do tecido hepático dos grupos.

### **Discussão**

Os principais achados deste estudo foram os valores cariométricos de diâmetro médio, volume e área do grupo S(6) se apresentarem menores em relação ao grupo D, o que denota um núcleo celular menor. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nas variáveis de massa do fígado e nas variáveis estereológicas. Também não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nas variáveis de ganho de massa corporal e composição corporal (TecAdp percentual e total, IMC e Índice de Lee).

As alterações encontradas no tecido hepático referentes ao tamanho e/ou conformação do núcleo é denominada anisonucleose.<sup>19</sup> Esta alteração foi observada em outro estudo e relacionada à lesão no tecido hepático, seguida de regeneração tecidual com células de núcleo

menor, induzidos por exposição à toxicidade de medicamentos ou mesmo pela oxidação de grandes quantidades de gordura no fígado em função de esteatose hepática<sup>20</sup>.

Dentre as anormalidades presentes no fígado pelo acúmulo de triglicerídeos intra-hepáticos, a degeneração hidrópica pode indicar presença de processo inflamatório. Provavelmente este fenômeno foi causado no citoplasma dos hepatócitos pela presença de gordura no tecido hepático além de sua capacidade normal de processamento<sup>21</sup>.

O programa de treinamento resistido colabora na expressão de proteínas responsáveis pela oxidação de ácidos graxos, regulação da lipogênese hepática e atenua estresse oxidativo no tecido hepático, revertendo quadro de esteatose hepática, levando a melhorias significativas na química do fígado e na atividade hepática<sup>22,23</sup>. Quando comparado ao grupo S(6) nota-se que a preservação sobre os hepatócitos de D, refletido no núcleo celular, proporcionada pelo treinamento resistido manteve-se o mesmo após o período de destreinamento, mesmo não havendo diferença quanto ao massa do fígado de D em relação à S(6).

O treinamento resistido intervalado de alta intensidade consome mais energia pós-exercício em relação a um treinamento de resistência comum<sup>24</sup>. Além disso, a via energética utilizada pelo treinamento resistido é a glicose, liberando substâncias que inibem a via de oxidação de ácidos graxos livres (como a adenosina monofostato (AMP), fosfato inorgânico (Pi) e amônia (NH<sub>4</sub>)), que é mais utilizado em repouso ou atividades de intensidade moderada<sup>25</sup>.

A literatura diz que o treinamento de resistência é indicado apenas para ganho de força muscular, pois para diminuição de massa e gordura corporal, o treinamento aeróbico demonstra melhor efetividade, principalmente em obesos<sup>26</sup>.

Então, não foram observadas alterações de massa corporal e TecAdp entre os grupos, principalmente do grupo E em relação à D, S e S(6), possivelmente pela pouca utilização de lipídeos e maior utilização de carboidratos para produção energética durante o período de treinamento, além de possível aumento de trofismo muscular nos animais destreinados, que contribui para aumento da massa corporal.

A conduta para manutenção da composição corporal adquirida pelo treinamento deve envolver dieta saudável e prática de exercícios. É aconselhável prosseguir um protocolo de restrição calórica e prática de exercício após perda de massa corporal, para manter os resultados alcançados<sup>27</sup>.

Possivelmente o consumo alimentar do grupo D pode ter influenciado no semelhante ganho de massa em relação aos grupos S e S(6), passando a ter um maior consumo alimentar em função e baixo gasto energético durante o período de destreino, reduzindo assim os efeitos proporcionados pelo queima de calorias provenientes do treinamento<sup>28</sup>.

Assim, o treinamento resistido pode ter proporcionado diminuição na concentração de TGHI dos animais treinados, entretanto, não mostrou-se eficiente em minimizar a massa do fígado, ganho de massa corporal e a quantidade de TecAdp dos grupos exercício e destreino. Quando comparado ao presente estudo, pode-se inferir que a evolução da massa corporal final em relação à massa corporal inicial dos animais pode ter sido provocada não só pelo aumento no armazenamento de tecido adiposo, mas também pelo ganho de massa muscular.

Dentre a metodologia utilizada, este estudo analisou a condição hepática apenas por imagens, além de avaliar a composição corporal utilizando tecido adiposo epididimal, e variáveis derivadas de comprimento e massa corporal dos animais. Logo o presente estudo possui algumas sugestões, sendo interessante em futuras pesquisas que sejam mensuradas a massa muscular dos animais ao final do treinamento, assim como quantificar a gordura intra-hepática. Além disso, seria interessante comparar a prática de outros protocolos de treinamento realizados de forma isolada e conjunto ao treinamento resistido, além de calcular o coeficiente alimentar dos animais e analisar a concentração de citocinas anti e pró-inflamatórias, tendo em vista sua influência sobre a DHGNA.

Como implicação prática, este trabalho demonstra que o treinamento resistido apresentou efetividade para preservar a condição hepática de efeitos deletérios provenientes do acúmulo de triglicerídeos intra-hepáticos, não trazendo alterações significativas quanto à composição corporal. Assim, podemos concluir que o treinamento resistido preservou o núcleo dos hepatócitos do grupo D, mesmo após aplicação do protocolo de destreino, sem alterar sua composição corporal em relação à S(6)

### **Agradecimentos**

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa.

### **Referências Bibliográficas**

- 1 – Lee S, Bacha F, Hannon T, Kuk JL, Boesch C and Arslanian S. Effects of Aerobic Versus Resistance Exercise Without Caloric Restriction on Abdominal Fat, Intrahepatic Lipid, and Insulin Sensitivity in Obese Adolescent Boys: A Randomized, Controlled Trial. *Diabetes* 2012;61:2787-95. doi: 10.2337/db12-0214
- 2 – Coll-Risco I, Aparicio VA, Nebot E, Camiletti-Moirón D, Martínez R, Kapravelou G, et al. Effects of interval aerobic training combined with strength exercise on body composition, glycaemic and lipid profile and aerobic capacity of obese rats. *J Sports Sci* 2015;3:1-9.
- 3 – Gomes RM, Marques AS, Torrezan R, Scomparin DX, Mathias PCF, Rinaldi W. Efeito de um Programa de Exercício Físico Moderado em Ratos de Diferentes Modelos de Obesidade. *Rev. Educ. Fis/UEM* 2012;23(2):285-94. doi: 10.4025/reveducfis.v23i2.13242
- 4 – Pinto RS, Lupi R, Brentano MA. Respostas metabólicas ao treinamento de força: uma ênfase no dispêndio energético. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum* 2011;13(2):150-7. doi: 10.5007/1980-0037.2011v13n2p150
- 5 – Ball D. Metabolic and endocrine response to exercise: sympathoadrenal integration with skeletal muscle. *J Endocrinol* 2015;224(2):R79-95. doi: 10.1530/JOE-14-0408
- 6 – Bhutani S, Klempel MC, Kroeger CM, Trepanowski JF, Varady KA. Alternate Day Fasting and Endurance Exercise Combine to Reduce Body Weight and Favorably Alter Plasma Lipids in Obese Humans. *Obesity* 2013;21(7):1370-9. doi: 10.1002/oby.20353
- 7 – Sertié RA, Andreotti S, Proença AR, Campaña AB, Lima FB. Fat gain with physical detraining is correlated with increased glucose transport and oxidation in periepididymal white adipose tissue in rats. *Braz J Med Biol Res* 2015;48(7):650-3. doi: 10.1590/1414-431X20154356
- 8 – Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hipertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24(8):881-6.



- 9 – Tamaki T, Akatsuka A, Tokunaga M, Ishige K, Uchiyama S, Shiraishi T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. *Am J Physiol*, 1997;273(1 Pt 1):C246-56
- 10 – Panveloski-Costa AC, Papoti M, Moreira RJ, Seraphim PM. Respostas Lactacidêmicas De Ratos Ao Treinamento Intermitente De Alta Intensidade. *Rev Bras Med Esporte*, 2012;18(2):122-5. doi: 10.1590/S1517-86922012000200012
- 11 – 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. doi: 10.1590/S0004-27302011000200008
- 12 – Camargo Filho JCS, Garcia BC, Kodama FY, Bonfim MR, Vanderlei LCM, Ramos EMC. Effects of Aerobic Exercise on the Skeletal Muscle of Rats Exposed to Cigarette Smoke. *Rev Bras Med Esporte* 2011;17(6):412-15. doi: 10.1590/S1517-86922011000600010
- 13 – Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 2007;41(1):111–119.
- 14 – Sjögren K, Hellberg N, Bohlooly-Y M, Savendahl L, Johansson MS, Berglindh T, et al., Body Fat Content Can Be Predicted In Vivo in Mice Using a Modified Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Technique. *J Nutr* 2001;131:2963-6.
- 15 – Shi H, Strader AD, Woods SC, Seeley RJ. The effect of fat removal on glucose tolerance is depot specific in male and female mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(4):1012-20.
- 16 – Dal Pai V. Histoenzimologia: teoria e prática. Instituto de Biociências – Unesp, Botucatu, 1995.

- 17 – Martins MRI, Azoubel R. Efeitos do Aspartame no Rim Fetal de Ratos: Estudo Cariométrico. *J Bras Nefrol* 2006;28(3):151-7.
- 18 – Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc* 2003;75(4):469-86.
- 19 – Guzman G, Chennuri R, Voros A, Boumendjel R, Locante A, Patel R, et al. Nucleometric Study of Anisonucleosis, Diabetes and Oxidative Damage in Liver Biopsies of Orthotopic Liver Transplant Recipients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Pathol Oncol Res* 2011;17:191-9. doi: 10.1007/s12253-010-9296-0
- 20 – Tonomura Y, Kato Y, Hanafusa H, Matsuyama YMK, Uehara T, Ueno M, et al. Diagnostic and predictive performance and standardized threshold of traditional biomarkers for drug-induced liver injury in rats. *J Appl Toxicol* 2015;35:165–72. doi: 10.1002/jat.3053
- 21 – Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Its Connection with Insulin Resistance, Dyslipidemia, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease. *Nutrients* 2013;5:1544-60. doi: 10.3390/nu5051544
- 22 – Domingos MM, Rodrigues MFC, Stotzer US, Bertucci DR, Souza MVC, Marine DA, et al. Resistance training restores the gene expression of molecules related to fat oxidation and lipogenesis in the liver of ovariectomized rats. *Eur J Appl Physiol* 2012;112:1437–44. doi: 10.1007/s00421-011-2098-6
- 23 – Xiaofei Hu, Zhigui Duan, Hui Hu, Guolin Li, Siyu Yan, Jinfeng Wu et al. Proteomic profile of carbonylated proteins in rat liver: Exercise attenuated oxidative stress may be involved in fatty liver improvement. *Proteomics* 2013, 13, 1755–64. doi: 10.1002/pmic.201200522
- 24 – King NA, Horner K, Hills AP, Byrne NM, Wood RE, Bryant et al. Exercise, appetite and weight management: understanding the compensatory responses in eating behaviour and

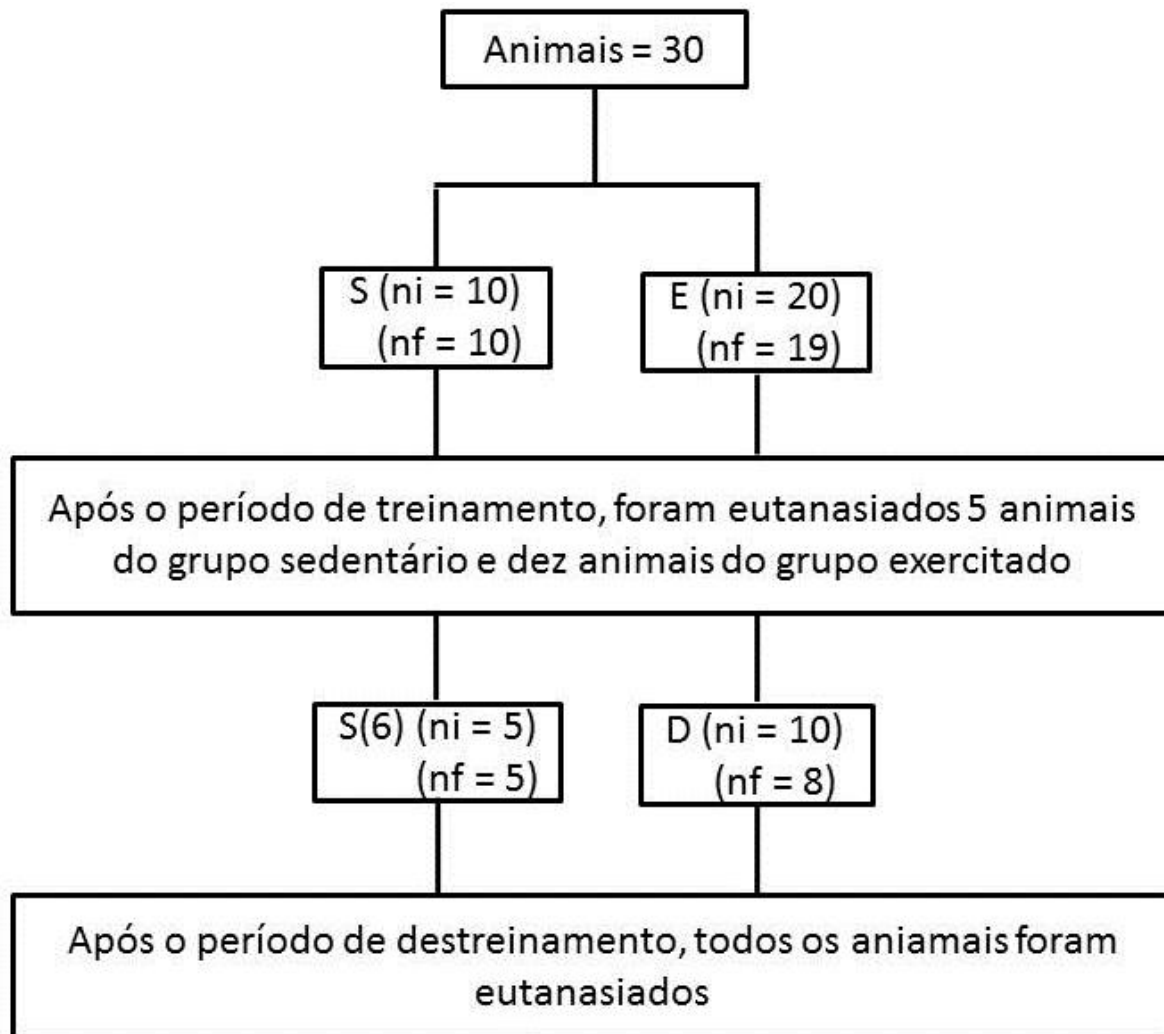
how they contribute to variability in exercise-induced weight loss. *Br J Sports Med* 2012;46:315–22. doi:10.1136/bjism.2010.082495

25 – Silveira LE, Pinheiro CHJ, Zoppi CC, Hirabara Sm, Vitzel KF, Bassi RA. Regulação do metabolismo de glicose e ácido graxo no músculo esquelético durante exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2011;55(5):303-13. doi: 10.1590/S0004-27302011000500002

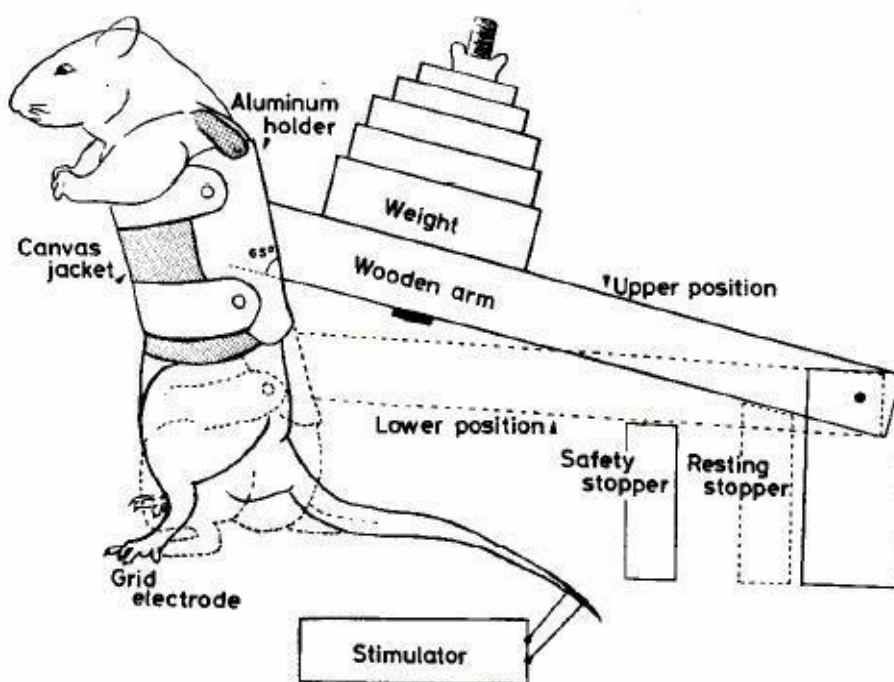
26 – Willis LH, Slentz CA, Bateman LA, Shields AT, Piner LW, Bales CW, et al. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J Appl Physiol* 2012;113:1831–7. doi:10.1152/jappphysiol.01370.2011

27 – Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS. The Role of Exercise and Physical Activity in Weight Loss and Maintenance. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(4):441-7. doi: 10.1016/j.pcad.2013.09.012

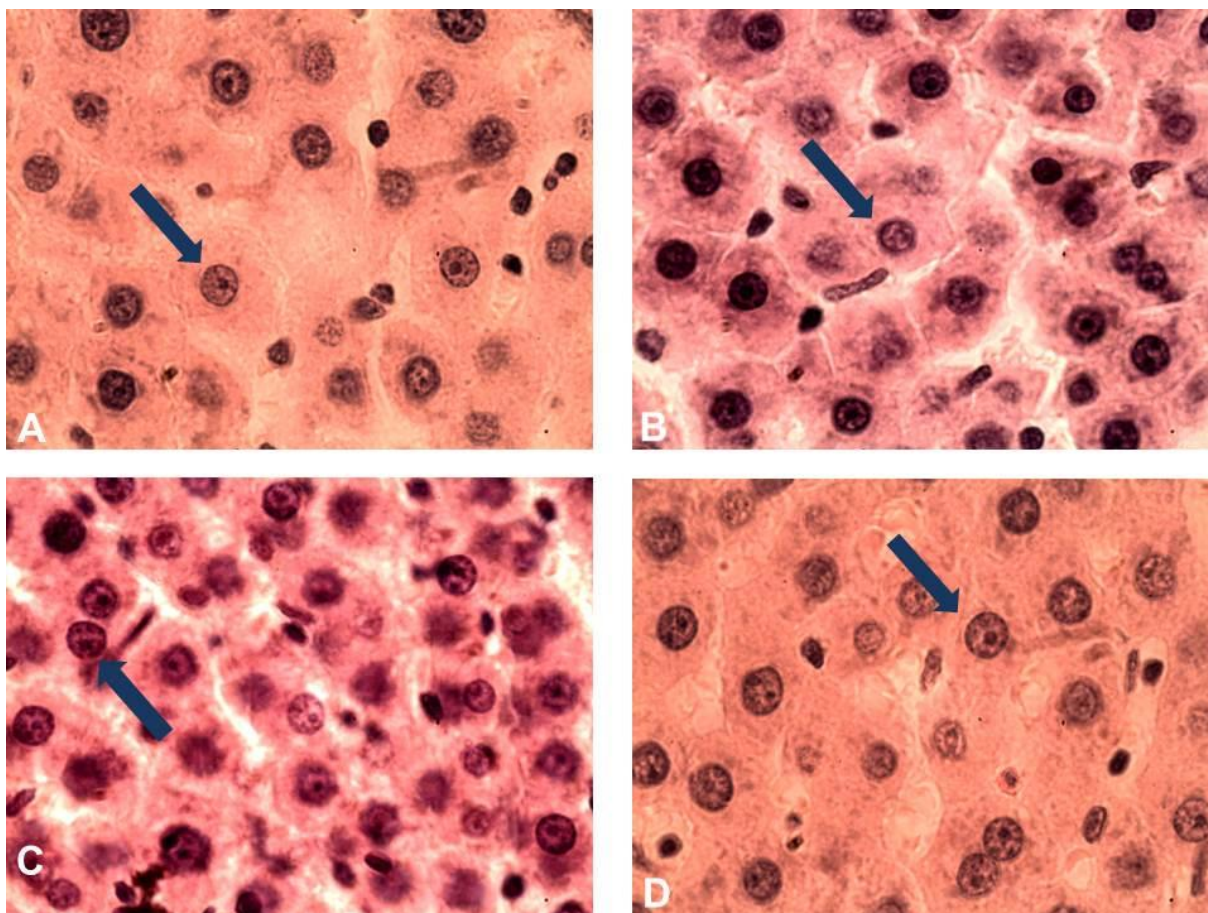
28 – Blundell JE, Gibbons C, Caudwell P, Finlayson G, Hopkins M. Appetite control and energy balance: impact of exercise. *Obes Rev* 2015;16(1):67-76. doi: 10.1111/obr.12257



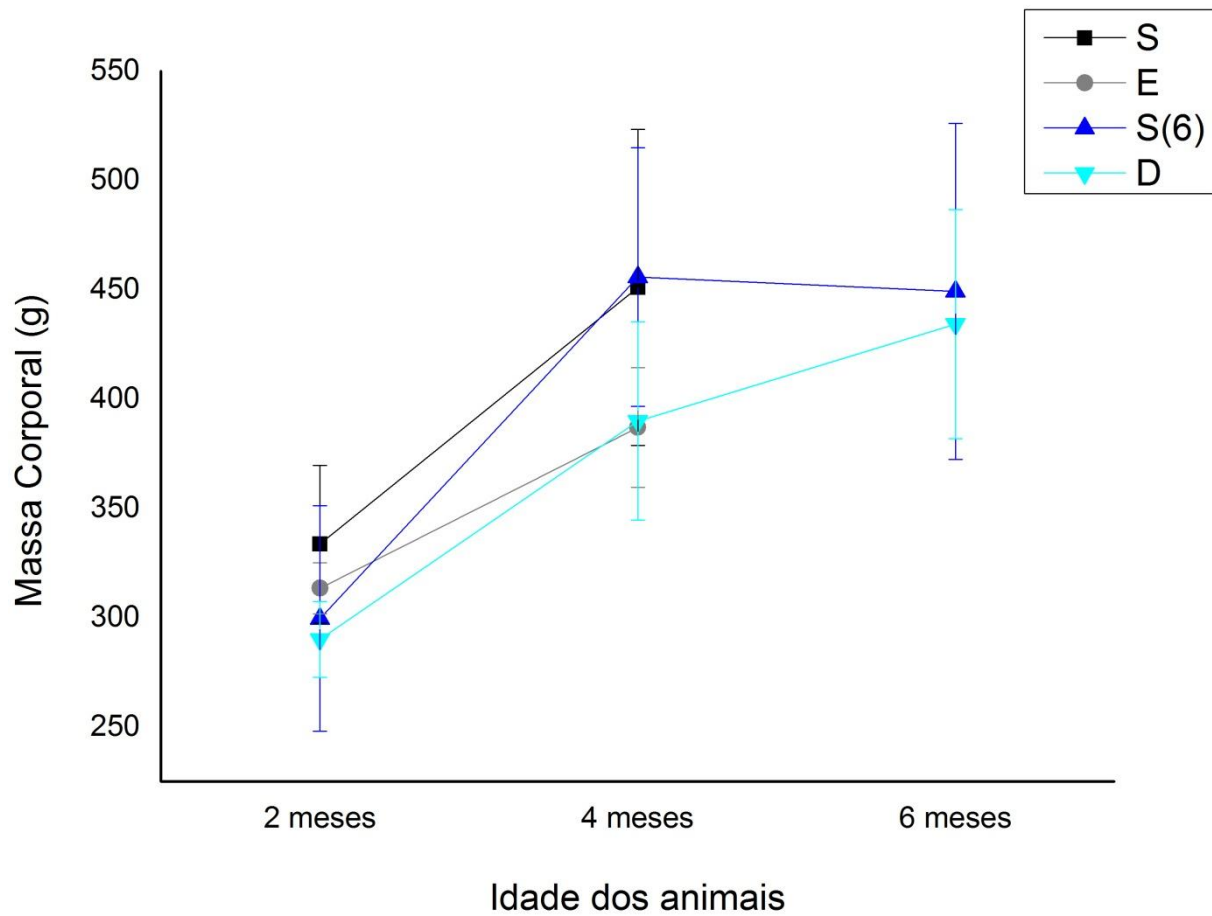
**Figura 1.** Módulo do desenho experimental. Legenda: S = Sedentário; E = Exercício; S(6) = Sedentário com seis meses de idade; D = Destreinado; ni = número inicial; nf = número final.



**Figura 2.** Diagrama representativo do aparelho de saltos segundo modelo de Tamaki et al, 1992.



**Figura 3.** Fotomicrografia do tecido hepático dos animais, cortados com espessura de  $6\mu\text{m}$  e coloração por HE, onde as setas indicam o núcleo dos hepatócitos. Legenda: A = grupo S; B = grupo E; C = grupo S(6); D = grupo D. 1000X.



**Figura 4.** Evolução da massa corporal dos animais durante o experimento. Legenda: S = Sedentário; E = Exercício; S(6) = Sedentário com seis meses de idade; D = Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos.

**Tabela 1.** Valores do TecAdp (g e %), Índice de Lee (g/mm<sup>3</sup>), IMC (g/cm<sup>2</sup>) e Massa do Fígado (MF, em g) dos animais para comparação entre os grupos.

Variáveis	S (n = 5)	E (n = 9)	S(6) (n = 4)	D (n = 9)
TecAdp (g)	4,100 (3,80)	2,460 (1,93)	3,500 (4,29)	2,440 (0,68)
TecAdp (%)	0,912 (1,46)	0,618 (0,45)	0,881 (0,70)	0,613 (0,11)
Índice de Lee	3,070 ± 0,035	2,982 ± 0,078	3,029 ± 0,128	3,012 ± 0,053
IMC	0,717 ± 0,059	0,648 ± 0,048	0,704 ± 0,099	0,683 ± 0,683
MF	11,000 ± 1,949	9,557 ± 0,617	11,034 ± 1,406	11,362 ± 1,454

**Legenda:** S = Sedentário; E = Exercício; S(6) = Sedentário com seis meses de idade; D = Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média ± Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos.



**Tabela 2.** Valores cariométricos dos diâmetros, maior, menor e médio ( $\mu\text{m}$ ), relação diâmetro maior/menor (D/d), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), volume ( $\mu\text{m}^3$ ), área ( $\mu\text{m}^2$ ), relação volume/área, coeficiente de forma, índice de contorno e excentricidade do tecido hepático dos animais.

Variáveis	S (n = 5)	E (n = 9)	S(6) (n = 4)	D (n = 9)
D. Maior	0,718 $\pm$ 0,064	0,672 $\pm$ 0,059	0,639 $\pm$ 0,048	0,696 $\pm$ 0,064
D. Menor	0,411 (0,04)	0,375 (0,09)	0,347 (0,05)	0,448 (0,05)
D. Médio	0,542 $\pm$ 0,031	0,506 $\pm$ 0,052	0,474 $\pm$ 0,046	0,570 $\pm$ 0,056 <sup>a</sup>
Perímetro	1,825 (0,20)	1,696 (0,24)	1,623 (0,26)	1,787 (0,30)
D/d	1,827 (0,40)	1,733 (0,20)	1,830 (0,17)	1,599 (0,10)
Volume	0,089 (0,02)	0,077 (0,04)	0,063 (0,03)	0,109 (0,04) <sup>a</sup>
Área	0,235 (0,04)	0,216 (0,08)	0,183 (0,06)	0,269 (0,08) <sup>a</sup>
Volume/Área	0,360 (0,03)	0,347 (0,06)	0,319 (0,05)	0,361 (0,06)
C. Forma	0,875 (0,07)	0,893 (0,04)	0,875 (0,03)	0,911 (0,05)
I. Contorno	3,796 (0,18)	3,755 (0,08)	3,796 (0,07)	3,703 (0,04)
Excentricidade	0,812 (0,08)	0,798 (0,05)	0,812 (0,03)	0,759 (0,05)

**Legenda:** S = Sedentário; E = Exercício; S(6) = Sedentário com seis meses de idade; D = Destreinado; M = Média; DP = Desvio Padrão; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média  $\pm$  Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos. <sup>a</sup> Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo S(6).

**Tabela 3.** Valores estereológicos de volume citoplasmático (Vv. Cit. -  $\mu\text{m}^3$ ), nuclear (Vv. Nucl. -  $\mu\text{m}^3$ ), matricial (Vv. Mat. -  $\mu\text{m}^3$ ), celular (Vv. Cel. -  $\mu\text{m}^3$ ), relação núcleo/citoplasma (Vv. N./Vv. Cit.) e densidade numérica (Nv -  $\text{n}^\circ/\mu\text{m}^3$ ) do tecido hepático dos animais.

Variáveis	S (n = 5)	E (n = 9)	S(6) (n = 4)	D (n = 9)
Vv. Cit.	0,509 ± 0,076	0,508 ± 0,064	0,486 ± 0,087	0,542 ± 0,037
Vv. Nucl.	0,252 ± 0,096	0,282 ± 0,071	0,285 ± 0,115	0,237 ± 0,061
Vv. Mat.	0,238 ± 0,023	0,209 ± 0,019	0,228 ± 0,032	0,220 ± 0,035
Vv. Cel.	0,761 ± 0,023	0,790 ± 0,019	0,772 ± 0,032	0,780 ± 0,035
Vv. N./Vv. Cit.	0,563 (0,40)	0,336 (0,23)	0,429 (0,44)	0,420 (0,69)
Nv	2,735 ± 0,085	2,840 ± 0,071	2,772 ± 0,117	2,801 ± 0,129

**Legenda:** S = Sedentário; E = Exercício; S(6) = Sedentário com seis meses de idade; D = Destreinado; M = Média; DP = Desvio Padrão; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média ± Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos.

## Artigo II

### Treinamento e destreinamento em ratos

**Quais alterações o treinamento resistido e o destreinamento geram sobre a adiposidade epididimal e tecido hepático de ratos submetidos à dieta hiperlipídica e normolipídica?**

Alan José Barbosa Magalhães<sup>1</sup>; Regina Celi Trindade Camargo<sup>2</sup>; Rafael Junges Moreira<sup>3</sup>; Patrícia Monteiro Seraphim<sup>1,2</sup>; Sergio Minoru Oikawa<sup>4</sup>; José Carlos Silva Camargo Filho<sup>1,2</sup>.

1 Programa de Pós Graduação em Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente). 2 Departamento de Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente). 3 Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo. 4 Departamento de Matemática e Computação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus Presidente Prudente).

Endereço para correspondência:

Alan José Barbosa Magalhães

Rua Roberto Simonsen, 305

Centro Educacional, CEP: 19060-900

Presidente Prudente – SP, Brasil

ajb\_magalhaes@yahoo.com.br

## **Quais alterações o treinamento resistido e o destreino geram sobre a adiposidade epididimal e tecido hepático de ratos submetidos à dieta hiperlipídica e normolipídica?**

**Resumo:** O treinamento resistido apresenta-se como uma intervenção eficaz para reduzir os efeitos deletérios da obesidade. No entanto, o destreino proporciona perda dos benefícios adquiridos pelo treinamento resistido. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do treinamento resistido seguido de destreino sobre o tecido hepático e composição corporal de ratos submetidos à dieta normolipídica e hiperlipídica. Foram obtidos 60 ratos Wistar, divididos nos subgrupos CS, CE, CS(6), CD, OS, OE, OS(6) e OD, que realizaram treinamento resistido com saltos, com três séries de 12 repetições, três vezes por semana, durante oito semanas. Ao final do protocolo CS, CE, OE e OS foram eutanasiados, enquanto que os grupos CS(6), CD, OS(6) e OD realizaram o protocolo de destreino de oito semanas. Logo após o destreino, os grupos restantes também foram eutanasiados, com mensuração de massa corporal e comprimento, além da retirada do Tecido Adiposo Epididimal (TecAdp) para análise de ganho de massa corporal, TecAdp percentual (%) e total (g), Índice de Lee e Índice de Massa Corporal (IMC). Também foi retirado o fígado, para análise cariométrica e estereológica. Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) nos valores de massa do fígado de CE em relação à OD e de OS(6) em relação à todos os grupos; maior ganho de massa corporal de OS(6) em relação à CE; em TecAdp (g), TecAdp (%) e IMC dos subgrupos OS(6) e OD em relação à CE e CD; na análise cariométrica nas variáveis de tamanho e forma nuclear dos subgrupos CE e CD em relação à OE e OD; na estereologia e índice de Lee não foram encontradas diferença entre os grupos. Concluímos que o treinamento resistido demonstrou melhores efeitos sobre o tecido hepático de CD em relação a OE e OD e sobre a composição corporal de CE e CD em relação à OS(6) e OD.

**Palavras-chave:** Obesidade, Fígado, Composição Corporal, Exercício, Histologia.

**Abstract:** Resistance training is presented as an effective intervention in reducing the harmful effects of obesity. However, detraining provides loss of benefits acquired by resistance training. The aim of this study was to evaluate the effect of resistance training and detraining on the liver tissue and body composition of rats subjected to normolipidic and hyperlipidic diet. Sixty male Wistar rats were obtained, divided into groups Control and Obese, also divided into subgroups SC, EC, SC(6), DC, SO, EO, SO(6) and DO, who performed resistance training with jumps, with three series 12 repetitions, three times per week for eight weeks. The groups SC, EC, EO and SO were euthanized after the training protocol, while the SO(6), DC, SO(6) and the DO performed eight weeks detraining protocol. Soon after detraining, the other groups were also euthanized with measurement of weight and length, and the withdrawal of Epididymal Adipose Tissue (EAT) for body weight gain, EAT percentage (%) and total (g), Lee Index and Body Mass Index (BMI) analysis. Also the liver was removed for kariometric and stereological analysis. There were statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) in the EC liver weight values to DO and SO(6) to all groups; the greater weight gain of SO(6) to EC; in EAT (g), EAT (%) and BMI subgroups SO(6) and DO to EC and DC; in kariometric analysis in size and shape variables of the EC and DC subgroups to EO and DO; in stereology and Lee Index, there were no differences between the groups. We conclude that resistance training provided better effects on liver tissue of DC compared to EO and DO and body composition of EC and DC compared to SO(6) and DO.

**Keywords:** Obesity, Liver, Body Composition, Exercise, Histology.

## Introdução

A obesidade é o aumento de gordura corporal, caracterizada pelo aumento de peso corporal e acúmulo excessivo de lipídeos em células adiposas pelo corpo, em função da ingestão de grandes quantidades de gordura e baixo gasto energético, aumentando assim, as concentrações de gordura corporal.<sup>(1,2)</sup>

Um dos fatores que podem levar à obesidade é o consumo de dieta hiperlipídica, ou “dieta de cafeteria”, muito encontrada em fast-foods e alimentos industrializados.<sup>(3)</sup> Este tipo de dieta induz à obesidade, ganho de massa adiposa, que esta indução ocorre pela conversão metabólica de lipídios, contidos no alimento hiperlipídico, em triglicerídeos e armazenados no tecido adiposo.<sup>(4)</sup>

O Tecido Adiposo Epididimal (TecAdp) armazena gordura e é um dos principais responsáveis pelo desenvolvimentos de complicações da obesidade.<sup>(5)</sup> A Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica (DHGNA) é caracterizada pelo aumento na concentração de triglicerídeos intrahepáticos (TGIH)<sup>(2)</sup>. O acúmulo de triglicerídeos intrahepáticos pode levar à peroxidação excessiva de lipídios, gerando a lesão tecidual, que evoluindo para inflamação crônica, pode progredir para uma esteatose hepática ou cirrose.<sup>(6)</sup>

Dentre as condutas terapêuticas não-farmacológicas para tratamento de obesidade e seus efeitos deletérios, o exercício físico apresenta-se como uma das mais indicadas para reduzir não só a massa corporal, como também os níveis de gordura hepática.<sup>(7)</sup>

O treinamento de resistência é efetivo em reduzir gordura abdominal e lipídios intra-hepáticos em obesos.<sup>(8)</sup> Alguns autores propõem também que este tipo de treinamento mostra-se eficaz em diminuir a concentração de adiponectina, relação adiponectina/leptina e alterações na gordura subcutânea, LDL, colesterol total e alanina transferase.<sup>(9)</sup>

Entretanto, no destreinamento, definido como interrupção do treinamento físico regularmente praticado, os benefícios gerados pelo exercício são perdidos parcial ou totalmente.<sup>(10)</sup> No entanto, há poucos trabalhos que verifiquem o efeito de um treinamento de intermitente seguido de destreinamento sobre a composição corporal e tecido hepático de

animais saudáveis e obesos, levando em consideração os possíveis aspectos clínicos que podem auxiliar pacientes a tratar obesidade e suas comorbidades.

Logo, o presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito de um programa de treinamento resistido seguido de destreino sobre a composição corporal e tecido hepático de ratos submetidos a dieta normolipídica e hiperlipídica. Hipotetiza-se que o treinamento resistido pode atenuar os o acúmulo de TGIH e TecAdp nos subgrupos controles, promovendo melhores condições para o tecido hepático e composição corporal em relação aos subgrupos obesos.

## **Métodos**

### *Delineamento Experimental*

Os animais foram subdivididos em dois grupos (controle e obesos), onde cada grupo foi dividido em mais dois subgrupos (sedentários e exercitados), para a aplicação das respectivas dietas e protocolos de treinamento e destreino. Ao final dos respectivos protocolos, os animais foram eutanasiados para coleta do material a ser analisado.

### *Animais*

Foram obtidos junto ao Biotério Central da FMB/UNESP de Botucatu 60 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, mantidos em gaiolas plásticas coletivas. Estes animais permaneceram em grupos de três a cinco animais por gaiola, no biotério do Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente, sob temperatura média de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às sete horas, alimentados com ração padrão e água de torneira fornecida ad libitum. A massa corporal dos animais foi registrado no início, semanalmente e ao final do período experimental.

## Figura 1 (inserir aqui)

Todos os procedimentos obedeceram aos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEUAS – FCT/UNESP, Campus de Presidente Prudente, protocolado sob o nº 004/2011. Os 60 animais foram separados aleatoriamente, distribuídos da seguinte forma:

Inicialmente, os grupos Controle e Obeso foram divididos em dois subgrupos cada: CS, CE, OS e OE. Os subgrupos CS e OS foram divididos em dois subgrupos: CS, CS(6); OS, OS(6). Com os subgrupos CE e OE também ocorreram as mesmas subdivisões: CE, CD; OE, OD (Figura 1).

Os animais dos subgrupos CS, CE, CD e CS(6), foram alimentados com ração padrão e água de torneira fornecida *ad libitum*. Já os subgrupos OS, OE, OD e OS(6), seguiram uma dieta hiperlipídica (dieta de cafeteria)<sup>(3,11)</sup> composta por: bacon, mortadela, salsicha, biscoito recheado, refrigerante e ração padrão, numa proporção de 2:2:2:1:1:1 respectivamente, numa composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos ao iniciar o protocolo de treinamento, fornecida *ad libitum* e renovada todos os dias.

### *Treinamento Resistido*

#### *Modelo de Treinamento*

O modelo de treinamento intermitente de força foi do tipo “Jump Squat”,<sup>(12)</sup> com algumas adaptações. O aparelho permite que o animal permaneça imobilizado por um colete adaptado sobre uma plataforma metálica.

O salto foi realizado através de uma estimulação elétrica, que foi realizada utilizando-se clipe metálico preso à extremidade da cauda do animal ligado a um eletroestimulador modelo Dualpex 961, da Quarker®, calibrado pelo INMETRO®, calibrado com frequência 1

Hertz (Hz), duração de 0,3s com intervalo de 2s entre cada estimulação elétrica e a intensidade variando de 3 a 6 miliamperes (mA), ajustada de acordo com cada animal, para que execute o movimento (Figura 2).

### **Figura 2 (inserir aqui)**

Esses parâmetros foram adotados por serem pulsos que não apresentam efeitos eletrolíticos, de modo que por maior que seja a duração do treinamento, os estímulos podem ser aplicados sem risco de lesão tecidual.

Com esta estimulação os animais realizaram o movimento de extensão completa da pata (joelho e tornozelo), levantando uma carga que será posicionada na parte posterior do colete. O movimento “jump squat” foi testado e validado como indutor de hipertrofia em animais semelhante à hipertrofia obtida em humanos levantadores de peso.<sup>(13)</sup>

O protocolo de treinamento foi realizado no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFis), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente, composto de três séries de 12 repetições, com intervalo de 60 segundos entre as séries, três vezes por semana, com intervalo de 24 horas entre cada dia de treinamento, durante 60 dias.

Foram realizadas três sessões de adaptação ao treinamento na primeira semana sem utilização de carga, com uma, duas e três séries de 12 repetições do primeiro ao terceiro dia respectivamente. Este modelo de treinamento foi validado como de alta intensidade por Panveloski-Costa et al. (2012).<sup>(14)</sup>

O período de familiarização ocorreu nas duas primeiras semanas, os animais realizaram o treino sem incremento de carga. A partir da terceira semana, uma carga equivalente a 50% da massa corporal foi imposta, até o final do protocolo de treinamento, sendo ajustada semanalmente de acordo com as variações de massa do animal.<sup>(15)</sup> Este



protocolo de treinamento iniciou-se juntamente com a dieta hiperlipídica, quando os animais atingiram a idade adulta jovem (aos 60 dias de idade).

Ao final do protocolo de treinamento iniciou-se o período de destreino para os animais dos subgrupos controle e obeso exercitados (CD e OD), onde os animais permaneceram por mais 60 dias sem realizar nenhum tipo de treinamento físico. Os animais dos subgrupos controle e obeso sedentários (CS(6) e OS(6)) permaneceram sem realizar nenhum tipo de atividade física. As respectivas dietas também não sofreram alterações.

#### *Procedimento Cirúrgico*

Os animais dos subgrupos CS, CE, OS e OE foram eutanasiados após 24 horas da última sessão de treinamento resistido. Já os animais dos grupos CS(6), CD, OS(6) e OD foram eutanasiados 24 horas após o último dia de destreino. O processo de eutanásia foi realizado no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente.

Os animais, além de mensurados o comprimento e massa corporal, para calcular o ganho de peso corporal ( $\Delta P = \text{peso final} - \text{peso inicial}$ ). Em seguida, os animais foram anestesiados, utilizando-se a associação de dois fármacos (cloridrato de xilasina e cloridrato de ketamina 1:1; 40mg/kg da massa corporal) por via intraperitoneal, seguida de parada cardíaca induzida perfusão do ventrículo esquerdo com 1ml de KCl a 10% até a parada cardíaca em diástole.

Realizada esta etapa, foi feita uma incisão paramedial no abdômen, com rebatimento do tecido epitelial até a exposição dos órgãos. Logo após a incisão, foi retirado o tecido adiposo epididimal, que foi pesado em balança de precisão, e o fígado do animal, para extração do lobo superior direito, padronizado para análise em todos os animais, fixado em solução de formalina 10%. Após 24h, este órgão foi transferido para frascos com álcool 70%. Esta solução foi renovada por três dias, conforme a eliminação dos resíduos do fixador.<sup>(16)</sup>

## *Avaliação da Composição Corporal*

### *Índice de Lee*

Foi calculado em todos os animais, utilizando a relação entre raiz cúbica da massa corporal em gramas (g) pelo comprimento focinho-cóccix (cm) e multiplicando-se por 10.<sup>(17)</sup>

### *Índice de Massa Corporal*

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado pela fórmula: Massa Corporal (g) / [Comprimento cabeça-nádega (mm)<sup>2</sup>].<sup>(18)</sup>

### *Tecido Adiposo Epididimal*

Após extração, o tecido adiposo epididimal (TecAdp) foi pesado em balança de precisão. Para a análise dos dados, foi determinado o seu percentual em relação à massa do animal pela fórmula matemática: {[TecAdp (g) x 100] / Massa Corporal (g)}. Tal procedimento foi estabelecido como forma de correção da diferença da massa corporal entre os animais.<sup>(19)</sup>

## *Avaliação do Tecido Hepático*

### *Morfologia Tecidual*

O preparo das peças e análises das lâminas foi realizado no Laboratório de Análise da Plasticidade Muscular (LAPMUS), do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP de Presidente Prudente. Após a fixação e a permanência em álcool 70%, foi realizado o procedimento para inclusão do material em parafina e posterior corte em micrótomo rotatório Microm® HM 325, com cortes transversais medindo 6µm de espessura. A coloração foi

realizada com Hematoxilina e Eosina (HE).<sup>(20)</sup> As lâminas coradas em HE foram utilizadas para a análise morfométrica e estereológica do tecido hepático dos animais.

#### *Cariometria e Estereologia do Tecido Hepático*

As imagens do tecido hepático dos animais foram obtidas por meio de um microscópio óptico Nikon® 50i, objetiva com aumento de 1000x e com acoplamento de câmera digital Nikon® Infinity 1, com captura de imagens por meio de um software de análise de imagens computadorizadas NIS-Elements D 3.0 - SP7 – build 547, Nikon® for Windows®.

A análise cariométrica<sup>(21)</sup> foi realizada por meio do software de análise de imagens computadorizadas Image-Pro Plus 4.5.0.29 For Windows® 98-NT-2000, da Media Cybernetics Inc. Foram contabilizados nas imagens 100 núcleos de hepatócitos por animal, onde foram traçados uma linha sobre o maior diâmetro e outra sobre o menor diâmetro. Logo após, estes valores foram colocados em equações, fornecendo os seguintes parâmetros: Diâmetro Maior, Diâmetro Menor, Diâmetro Médio, Perímetro, Relação Diâmetro Maior e Menor, Volume, Área, Relação Volume/Área, Coeficiente de Forma, Coeficiente de Forma, Índice de Contorno e Excentricidade. A unidade de medida para os valores é o micrômetro ( $\mu\text{m}$ ). No tecido hepático, o diâmetro menor localiza-se na intersecção do diâmetro maior, na menor extremidade do núcleo do hepatócito.

Para o estudo estereológico foram obtidas 20 imagens de cada animal componente dos grupos, sendo delimitados os campos a serem analisados. Com um software de análise de imagens computadorizadas (ImageJ® 1.47t for Windows® do National Institute of Health - USA), foi inserido um grid de Sistema-Teste de linhas horizontais e verticais com 36 pontos (para delimitar a área-teste) e um grid sobreposto com 100 crosses (do qual foi realizada a contagem das estruturas).<sup>(22)</sup>

Foi contabilizado tão somente os pontos-teste (cross) que tocavam a estrutura celular dos hepatócitos, dentro de um campo (área-teste delimitada pelo sistema teste). O padrão foi realizado no citoplasma, núcleo e matriz extracelular dos hepatócitos. A projeção

foi realizada em 20 campos diferentes, com 100 pontos-teste cada para campo, totalizando 2000 pontos por animal dos grupos. Após estes procedimentos, os parâmetros obtidos foram: Volume (Celular, Citoplasmático, Nuclear e Matricial), Relação Núcleo/Citoplasma e Densidade Celular Numérica. A unidade de medida utilizada para os valores foi o micrômetro ( $\mu\text{m}$ ).

### *Análise Estatística*

Para comparação estatística dos resultados de composição corporal morfométricos obtidos nos grupos, foi utilizado o Teste de Levene para a verificação da normalidade dos dados, Teste ANOVA One Way e Pós-Teste de Tukey para dados paramétricos e o Teste Kruskal-Wallis e Pós-Teste de Dunn para dados não-paramétricos. Todos os procedimentos adotaram o valor de significância de ( $p < 0,05$ ). Os cálculos foram realizados com o software IBM SPSS 22.0 for Windows® e o software Origin versão 9.0® for Windows® para elaboração de gráficos.

## **Resultados**

A figura 3 mostra os valores de ganho de massa corporal dos subgrupos de Controle e Obeso.

### **Figura 3 (inserir aqui)**

Na figura 3, observa-se diferença estatisticamente significativa no valor de ganho de massa corporal do subgrupo OS(6) em relação ao subgrupo CE ( $p = 0,04$ ).

Na tabela 1, encontram-se os valores de massa do fígado e composição corporal dos subgrupos de controle e obesos.

### **Tabela 1 (inserir aqui)**

Foi possível verificar na tabela 3 diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) na variável TecAdp (g) dos subgrupos CE e CD para OS(6) e OD; TecAdp (%) do subgrupo CD para OS(6) e OD; IMC do subgrupo CE para OS(6) e OD; massa do fígado entre os subgrupos CE e OD e de OS(6) para todos os outros subgrupos.

Na tabela 2, encontram-se os valores cariométricos do núcleo dos hepatócitos dos subgrupos de controle e obeso.

### **Tabela 2 (inserir aqui)**

Na tabela 2, é possível observar diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do subgrupo CD para OE e OD nas variáveis diâmetro menor, diâmetro médio, D/d, volume, área, coeficiente de forma e índice de contorno.

Na tabela 3, encontram-se os valores estereológicos do tecido hepático dos subgrupos de controle e obeso.

### **Tabela 3 (inserir aqui)**

Na tabela 3, não foram encontradas diferenças estatísticas entre nas variáveis estereológicas entre os subgrupos estudados.

## **Discussão**

Os principais resultados do presente estudo quanto à composição corporal dos grupos foram: menor ganho de massa corporal do subgrupo CE em relação ao subgrupo OS(6); menor quantidade de TecAdp dos subgrupos CE e CD em relação aos subgrupos OS(6) e OD; menor percentual TecAdp do subgrupo CD em relação aos subgrupos OS(6) e OD; menor IMC subgrupo CE em relação à OS(6) e OD.

Com relação aos menores valores de composição corporal (TecAdp total e percentual, IMC e Índice de Lee) apresentados pelo subgrupo CE e CD em relação a OS(6) e OD, alguns autores propõem que o treinamento resistido pode afetar

positivamente os parâmetros de inflamação, massa corporal, área de adipócitos e lipídios em ratos obesos.<sup>(23)</sup> Além do treinamento regular, a restrição de consumo de calorias pode contribuir para aumentar a tolerância sistêmica à glicose, melhorar a oxidação mitocondrial de ácidos graxos, função oxidativa de enzimas e supressão hepática de lipogênese.<sup>(24)</sup>

Tais parâmetros corroboram os resultados de nosso estudo, o subgrupo CE apresentou menor ganho de massa corporal em relação ao subgrupo OS(6), além dos menores valores de composição corporal, principalmente os subgrupos CE e CD em relação à OS(6) e OD. Além disso, o destreinamento do subgrupo CD não apresentou redução dos efeitos do exercício sobre a composição corporal proporcionados, quando comparado ao subgrupo CE.

Quanto à análise cariométrica do tecido hepático, os principais achados foram animais do subgrupo CD apresentaram um núcleo do hepatócito com maior tamanho e volume, além de menor deformação em relação aos animais dos subgrupos OS(6) e OD. Quanto à análise estereológica, não foram apresentadas diferenças significantes entre os subgrupos. No entanto, quanto à massa do fígado dos animais, foi encontrada diferença significativa de CE em relação à OD e de todos os subgrupos em relação à OS(6).

Alterações nucleares de tamanho e forma no tecido hepático de animais expostos a substâncias tóxicas em um fenômeno denominado anisonucleose, que está associada à presença de imunomarcadores de dano oxidativo no fígado, o que pode apontar para um processo inflamatório nesta região.<sup>(25,26)</sup>

Uma dieta hipercolesterolêmica pode induzir à diminuição no tamanho e alterações na conformação de núcleo de hepatócitos de animais.<sup>(27)</sup> A degeneração hidrópica que ocorre no tecido hepático de animais obesos em função de processos inflamatórios gerados por uma esteatose macrovesicular contribui para o quadro de anisonucleose no núcleo dos hepatócitos.<sup>(28)</sup> Possivelmente ocorreram alterações

semelhantes nos hepatócitos dos animais dos grupos obesos, mais expostos ao risco de aumento da concentração de gordura intrahepática.

O treinamento resistido proporciona diminuição de tecido adiposo epididimal, perfil lipídico além de diminuição de gordura intra-hepática, muscular esquelética e cardíaca.<sup>(29)</sup> Além disso, a estimulação de liberação de glucagon hepático por vias metabólicas do exercício contribuem para reverter quadro de fígado gorduroso em ratos.<sup>(30)</sup>

Animais que recebem dieta hiperlipídica apresentam maior ganho de massa corporal, aumento na adipocidade e aumento nos triglicerídeos intra-hepáticos<sup>(31)</sup>, onde o aumento nas concentrações de triglicerídeos intra-hepáticos podem justificar o aumento da massa do fígado de OS(6) em relação à todos os grupos e de OD em relação à CE.

Entretanto, a adição de um protocolo de treinamento resistido minimiza os efeitos deletérios proporcionados pelo consumo de dieta hiperlipídica.<sup>(31)</sup> Isto ocorre em função do aumento da atividade da superóxido dismutase e catalase no fígado de animais com treinamento resistido, melhorando o sistema antioxidante e diminuindo os marcadores de peroxidação no fígado.<sup>(32)</sup>

Um autor verificou que a dieta afeta a fisiopatologia da DHGNA, onde o excesso de gordura saturada e frutose estimula o acúmulo de lipídio intra-hepático, agravando o quadro de esteatose hepática.<sup>(33)</sup> Este mesmo autor também afirma que mudanças nos hábitos alimentares com ou sem alterações no estilo de vida podem proporcionar efeitos preventivos para o fígado. Isto sugere que o exercício mostra-se eficaz para redução de massa corporal, mas necessita de uma dieta saudável para resultar em uma perda de massa significativa.

Uma intervenção combinada com treinamento e dieta normolipídica pode reduzir a concentração de triglicerídeos intra-hepáticos, leptina sérica e o tamanho de células adiposas, podendo refletir em redução da massa corporal e prevenindo também lesões hepáticas.<sup>(34)</sup> Além disso, o treinamento resistido proporciona redução

nos marcadores de apoptose celular no fígado, o que indica redução na perda de hepatócitos em função da DHGNA.<sup>(35)</sup>

Logo, a dieta pode ter sido um fator importante para que os animais dos subgrupos OE e OD não apresentarem efeito de proteção sobre o tecido hepático e valores positivos de composição corporal como apresentaram os animais dos subgrupos CE e CD.

Este estudo possui limitações, pois analisou a condição hepática apenas por imagens, além de avaliar a composição corporal utilizando tecido adiposo epididimal, e variáveis derivadas de comprimento e massa corporal dos animais. Mediante as limitações citadas, o presente estudo possui algumas sugestões, sendo interessante em futuras pesquisas que sejam mensuradas a força muscular dos animais ao final do treinamento, assim como quantificar se a gordura intra-hepática é um fator determinante para a diferença na massa do fígado dos grupos obesos citados.

Também seria interessante comparar a prática de outros protocolos de treinamento realizados de forma isolada e conjunto ao treinamento resistido, além de calcular o coeficiente alimentar dos animais e analisar a concentração de citocinas anti e pró-inflamatórias, tendo em vista seus efeitos sobre o acúmulo de lipídios na obesidade e na DHGNA.

Como implicação prática, este trabalho demonstra que o treinamento resistido somado a uma dieta normolipídica possui efetividade para evitar o ganho de massa corporal, acúmulo de tecido adiposo epididimal, além de preservar a condição hepática de efeitos deletérios provenientes do acúmulo de triglicerídeos intra-hepáticos, como alternativa para um tratamento não farmacológico e de baixo custo para tratamento da obesidade e da DHGNA.

## **Conclusão**



O treinamento resistido demonstrou melhores efeitos sobre o tecido hepático de CD em relação a OE e OD e sobre a composição corporal de CE e CD em relação à OS(6) e OD.

### **Agradecimentos**

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro no desenvolvimento do presente estudo. Os autores declaram não haver conflito de interesses no presente trabalho.

### **Referências Bibliográficas**

1. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde – DATASUS. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=01>. Acesso em: 07/02/2016.
2. Moura IH, Costa JV, Leal LB, Araújo DS, Silva ARV, Almeida PC. Índice de Massa Corporal e Circunferência Abdominal Entre Adolescentes no Interior do Piauí, Brasil. Rev Rene 2012;13(2):253-60
3. 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. doi: 10.1590/S0004-27302011000200008.
4. Assaad H, Yao K, Tekwe CD, Feng S, Bazer FW, Zhou L, et al. Analysis of energy expenditure in diet-induced obese rats. Front Biosci 2014;19:967–85.

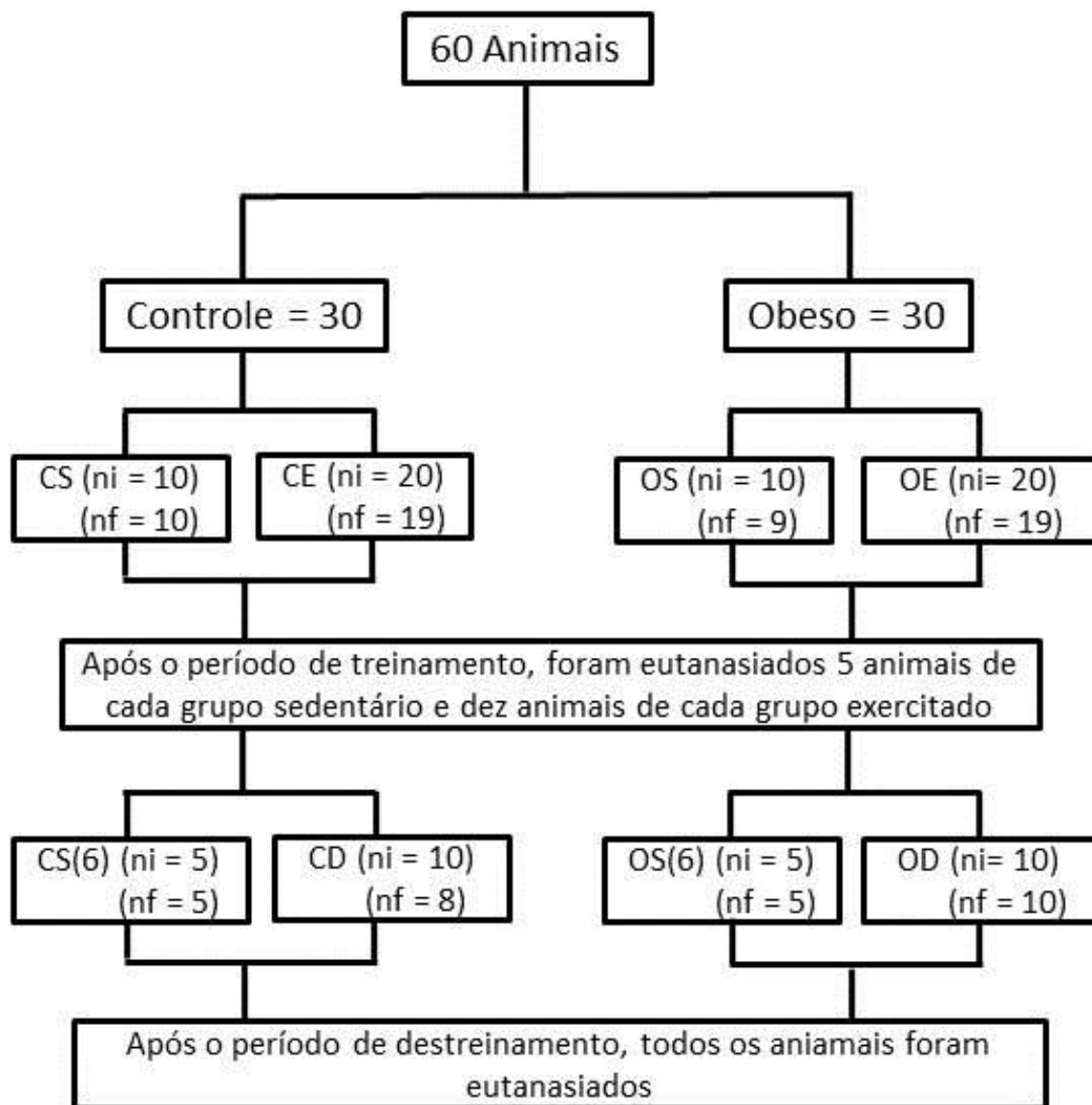
5. Vissers D, Hens W, Taeymans J, Baeyens J, Poortmans J, Gaal LV. The Effect of Exercise on Visceral Adipose Tissue in Overweight Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2013;8(2):e56415. doi: 10.1371/journal.pone.0056415
6. Song Y, Lee S, Jang S, Ha JH, Song WM, Ko Y, et al. *Sasa borealis* Stem Extract Attenuates Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-induced Obese Rats. *Nutrients* 2014;6:2179-95. doi: 10.3390/nu6062179
7. Spassiani NA, Kuk JL. Exercise and the fatty liver. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008;33:802–7. doi: 10.1139/H08-059
8. Lee S, Bacha F, Hannon T, Kuk JL, Boesch C, Arslanian S. Effects of Aerobic Versus Resistance Exercise Without Caloric Restriction on Abdominal Fat, Intrahepatic Lipid, and Insulin Sensitivity in Obese Adolescent Boys - A Randomized, Controlled Trial. *Diabetes* 2012;61(11):2787-95. doi: 10.2337/db12-0214
9. Piano A, Mello MT, Sanches PL, Silva PL, Campos RMS, Carnier J, et al. Long-term effects of aerobic plus resistance training on the adipokines and neuropeptides in nonalcoholic fatty liver disease obese adolescents. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24(11):1313-24. doi: 10.1097/MEG.0b013e32835793ac.
10. Kim D, Singh H, Young KC, Fahs CA, Rossow LM, Loenneke JP et al. Effects of detraining on performance measures following cycling with or without blood flow restriction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2013;45(5):616-616.
11. Lamas O, Martínez JA, Martí A. Energy restriction restores the impaired immune response in overweight (cafeteria) rats. *J Nutr Biochem* 2004;15(7):418-25.

12. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hipertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24(8):881-6
13. Tamaki T, Akatsuka A, Tokunaga M, Ishige K, Uchiyama S, Shiraishi T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. *Am J Physiol*, 1997;273(1 Pt 1):C246-56
14. Panveloski-Costa AC, Papoti M, Moreira RJ, Seraphim PM. Respostas lactacidêmicas de ratos ao treinamento intermitente de alta intensidade. *Rev Bras Med Esporte* 2012;18(2):122-5. doi: 10.1590/S1517-86922012000200012
15. Lima CD, Alves LE, Iagher F, Machado AF, Bonatto SJ, Kuczera D, et al. Anaerobic exercise reduces tumor growth, cancer cachexia and increases macrophage and lymphocyte response in Walker 256 tumor-bearing rats. *Eur J Appl Physiol* 2008;104(6):957-64. doi: 10.1007/s00421-008-0849-9
16. Camargo Filho JCS, Garcia BC, Kodama FY, Bonfim MR, Vanderlei LCM, Ramos EMC. Effects of Aerobic Exercise on the Skeletal Muscle of Rats Exposed to Cigarette Smoke. *Rev Bras Med Esporte* 2011;17(6):412-15. doi: 10.1590/S1517-86922011000600010
17. Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 2007;41(1):111–119.
18. Sjögren K, Hellberg N, Bohlooly-Y M, Savendahl L, Johansson MS, Berglindh T, et al., Body Fat Content Can Be Predicted In Vivo in Mice Using a Modified Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Technique. *J Nutr* 2001;131:2963-6.

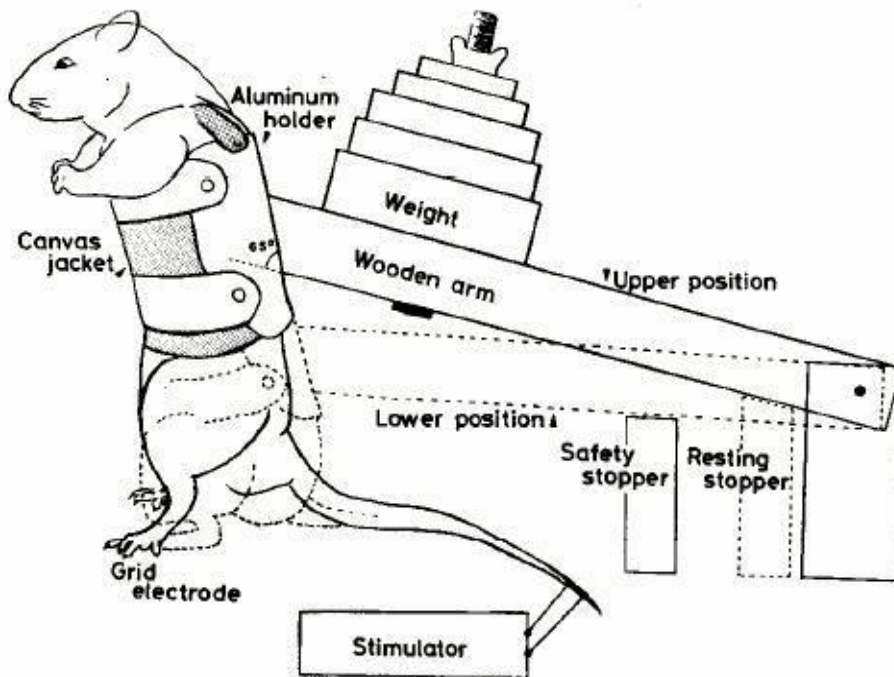
19. Shi H, Strader AD, Woods SC, Seeley RJ. The effect of fat removal on glucose tolerance is depot specific in male and female mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(4):1012-20.
20. Dal Pai V. *Histoenzimologia: teoria e prática.* Instituto de Biociências – Unesp, Botucatu, 1995.
21. Martins AT, Santos FS, Scannavino LFL, Pires JR, Zuza EP. Junior JAP, et al. Effect of sodium cyclamate on the rat fetal exocrine pancreas: a karyometric and stereological study. *Int J Morphol* 2010;28(3):899-904. doi: 10.4067/S0717-95022010000300038
22. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc* 2003;75(4):469-86.
23. Speretta GFF, Rosante MS, Duarte FO, Leite RD, Lino ADS, Andre RA. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics* 2012;67(12):1469-77. doi: 10.6061/clinics/2012(12)19
24. Rector RS, Uptergrove GM, Morris EM, Borengasser SJ, Laughlin MH, Booth FW, et al. Daily exercise vs. caloric restriction for prevention of nonalcoholic fatty liver disease in the OLETF rat model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;300:G874–83. doi:10.1152/ajpgi.00510.2010
25. Jarrar BM, Taib NT. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi J Biol Sci* 2012;19:203-10. doi: 10.1016/j.sjbs.2011.12.005

26. Guzman G, Chennuri R, Voros A, Boumendjel R, Locante A, Patel R, et al. Nucleometric Study of Anisonucleosis, Diabetes and Oxidative Damage in Liver Biopsies of Orthotopic Liver Transplant Recipients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Pathol Oncol Res* 2011;17:191–9. doi: 10.1007/s12253-010-9296-0
27. Accioly MF, Souza DRS, Padulla SAT, Camargo Filho JCS, Do Carmo EM, Martins AT, et al. Effect of Statins and Aerobic Physical Exercise on Liver Function in Dyslipidemic Rats – Morphometric Study. *Int J Morphol* 2013;31(4):1309-16. doi: 10.4067/S0717-95022013000400026
28. Menghini R, Casagrande V, Menini S, Marino A, Marzano V, Hribal ML, et al. TIMP3 Overexpression in Macrophages Protects From Insulin Resistance, Adipose Inflammation, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *Diabetes* 2012;61(2):454-62. doi: 10.2337/db11-0613
29. Leite RD, Prestes J, Bernardes CF, Shiguemoto GE, Pereira GB, Duarte JO, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2009;34:1079-86. doi: 10.1139/H09-116
30. Berglund ED, Lustig DG, Baheza RA, Hasenour CM, Lee-Young RS, Donahue EP, et al. Hepatic Glucagon Action Is Essential for Exercise-Induced Reversal of Mouse Fatty Liver. *Diabetes*. 2011;60(11):2720-9. doi: 10.2337/db11-0455
31. Leite RD, Durigan RCM, Lino ADS, Campos MVS, Souza MG, Selistre-de-Araújo HS et al. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metab Clin Exp* 2013;62:1477-84. doi: 10.1016/j.metabol.2013.05.009

32. Botezelli JD, Cambri LT, Ghezzi AC, Dalia RA, Scarioti PPM, Ribeiro C, et al. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. *Diabetol Metab Syndr* 2011;3:35. doi:10.1186/1758-5996-3-35
33. Wit NJW, Afman LA, Mensink M, Müller M. Phenotyping the effect of diet on non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2012;57(6):1370-3. doi: 10.1016/j.jhep.2012.07.003
34. Kurosaka Y, Shiroya Y, Yamauchi H, Kaneko T, Okubo Y, Shibuya K, et al. Effects of habitual exercise and dietary restriction on intrahepatic and periepididymal fat accumulation in Zucker fatty rats. *BMC Res Notes* 2015;8:121. doi: 10.1186/s13104-015-1063-6
35. Donatto FF, Neves RX, Rosa FO, Camargo RG, Ribeiro H, Matos-Neto EM et al. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. *Cytokine* 2013;61:426-32. doi: 10.1016/j.cyto.2012.10.021

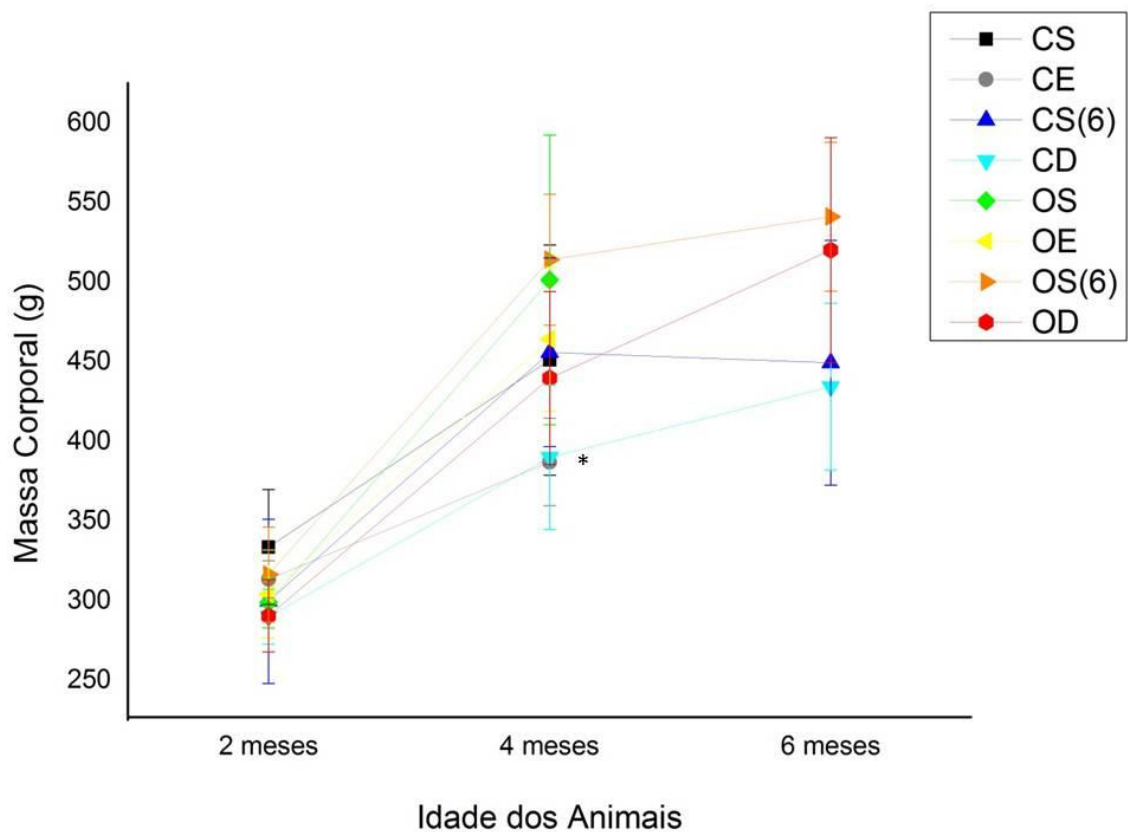


**Figura 1.** Módulo do desenho experimental. Legenda: CS = Controle Sedentário; CE = Controle Exercício; CS(6) = Controle Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; CD = Controle Destreinado; OS = Obeso Sedentário; OE = Obeso Exercício; OS(6) = Obeso Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; OD = Obeso Destreinado; ni = número inicial; nf = número final.



**Figura 2.** Diagrama representativo do aparelho de saltos segundo modelo de Tamaki et al, 1992.





**Figura 3.** Evolução da massa corporal dos animais durante o experimento. Legenda: CS = Controle Sedentário; CE = Controle Exercício; CS(6) = Controle Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; CD = Controle Destreinado; OS = Obeso Sedentário; OE = Obeso Exercício; OS(6) = Obeso Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; OD = Obeso Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média  $\pm$  Desvio Padrão) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos. \* Diferença estatisticamente significativa no ganho de massa de CE em relação à OS(6).

**Tabela 1.** Valores do TecAdp (g e %), Índice de Lee (g/mm<sup>3</sup>), IMC (g/cm<sup>2</sup>) e Massa do Fígado (MF, em g) dos animais para comparação entre os grupos.

Variáveis	CS (n = 5)	CE (n = 9)	CS(6) (n = 4)	CD (n = 9)	OS (n = 5)	OE (n = 9)	OS(6) (n = 4)	OD (n = 9)
TecAdp (g)	4,10 (3,80)	2,46 (1,93) <sup>a,b</sup>	3,50 (4,29)	2,44 (0,68) <sup>a,b</sup>	8,99 (10,86)	6,26 (3,31)	11,14 (2,22)	10,99 (10,00)
TecAdp (%)	0,91 (1,46)	0,61 (0,45)	0,88 (0,70)	0,61 (0,11) <sup>a,b</sup>	1,94 (1,46)	1,34 (0,59)	2,01 (0,32)	2,00 (1,93)
Índice de Lee	3,070 ± 0,035	2,982 ± 0,078	3,029 ± 0,128	3,012 ± 0,053	3,137 ± 0,131	3,104 ± 0,168	3,144 ± 0,059	3,118 ± 0,111
IMC	0,717 ± 0,059	0,648 ± 0,048 <sup>a,b</sup>	0,704 ± 0,099	0,683 ± 0,683	0,783 ± 0,107	0,756 ± 0,110	0,805 ± 0,048	0,782 ± 0,080
MF	11,000 ± 1,949 <sup>a</sup>	9,557 ± 0,617 <sup>a,b</sup>	11,034 ± 1,406 <sup>a</sup>	11,362 ± 1,454 <sup>a</sup>	12,200 ± 2,846 <sup>a</sup>	10,831 ± 0,832 <sup>a</sup>	16,448 ± 1,727	12,386 ± 1,835 <sup>a</sup>

**Legenda:** CS = Controle Sedentário; CE = Controle Exercício; CS(6) = Controle Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; CD = Controle Destreinado; OS = Obeso Sedentário; OE = Obeso Exercício; OS(6) = Obeso Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; OD = Obeso Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média ± Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de p<0,05 para todos os procedimentos. <sup>a</sup> Diferença estatisticamente significativa de p<0,05 em relação ao subgrupo OS(6). <sup>b</sup> Diferença estatisticamente significativa de p<0,05 em relação ao subgrupo OD.

**Tabela 2.** Valores cariométricos dos diâmetros, maior, menor e médio ( $\mu\text{m}$ ), relação diâmetro maior/menor (D/d), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), volume ( $\mu\text{m}^3$ ), área ( $\mu\text{m}^2$ ), relação volume/área, coeficiente de forma, índice de contorno e excentricidade do tecido hepático dos animais.

Variáveis	CS (n = 5)	CE (n = 9)	CS(6) (n = 4)	CD (n = 9)	OS (n = 5)	OE (n = 9)	OS(6) (n = 4)	OD (n = 9)
D. Maior	0,718 $\pm$ 0,064	0,672 $\pm$ 0,059	0,639 $\pm$ 0,048	0,696 $\pm$ 0,064	0,641 $\pm$ 0,041	0,635 $\pm$ 0,026	0,652 $\pm$ 0,060	0,640 $\pm$ 0,051
D. Menor	0,411 (0,04)	0,375 (0,09)	0,347 (0,05)	0,448 (0,05) <sup>a,b</sup>	0,359 (0,04)	0,331 (0,02)	0,340 (0,04)	0,335 (0,04)
D. Médio	0,542 $\pm$ 0,031	0,506 $\pm$ 0,052	0,474 $\pm$ 0,046	0,570 $\pm$ 0,056 <sup>a,b</sup>	0,476 $\pm$ 0,026	0,456 $\pm$ 0,019	0,487 $\pm$ 0,032	0,454 $\pm$ 0,034
Perímetro	1,825 (0,20)	1,696 (0,24)	1,623 (0,26)	1,787 (0,30)	1,628 (0,16)	1,593 (0,11)	1,629 (0,23)	1,584 (0,17)
D/d	1,827 (0,40)	1,733 (0,20)	1,830 (0,17)	1,599 (0,10) <sup>a,b</sup>	1,864 (0,13)	1,968 (0,17)	1,850 (0,19)	2,045 (0,30)
Volume	0,089 (0,02)	0,077 (0,04)	0,063 (0,03)	0,109 (0,04) <sup>a,b</sup>	0,066 (0,02)	0,057 (0,01)	0,066 (0,02)	0,056 (0,02)
Área	0,235 (0,04)	0,216 (0,08)	0,183 (0,06)	0,269 (0,08) <sup>a,b</sup>	0,191 (0,03)	0,174 (0,02)	0,191 (0,04)	0,175 (0,04)
Volume/Área	0,360 (0,03)	0,347 (0,06)	0,319 (0,05)	0,361 (0,06)	0,322 (0,03)	0,308 (0,01)	0,322 (0,03)	0,307 (0,03)
C. Forma	0,875 (0,07)	0,893 (0,04)	0,875 (0,03)	0,911 (0,05) <sup>b</sup>	0,870 (0,02)	0,848 (0,03)	0,874 (0,03)	0,837 (0,05)
I. Contorno	3,796 (0,18)	3,755 (0,08)	3,796 (0,07)	3,703 (0,04) <sup>a,b</sup>	3,819 (0,06)	3,864 (0,08)	3,813 (0,08)	3,903 (0,14)
Excentricidade	0,812 (0,08)	0,798 (0,05)	0,812 (0,03)	0,759 (0,05)	0,808 (0,02)	0,829 (0,02)	0,799 (0,05)	0,830 (0,04)

**Legenda:** CS = Controle Sedentário; CE = Controle Exercício; CS(6) = Controle Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; CD = Controle Destreinado; OS = Obeso Sedentário; OE = Obeso Exercício; OS(6) = Obeso Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; OD = Obeso Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média  $\pm$  Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos. <sup>a</sup> Diferença estatisticamente significante de  $p < 0,05$  em relação ao grupo OE. <sup>b</sup> Diferença estatisticamente significante de  $p < 0,05$  em relação ao grupo OD.

**Tabela 3.** Valores estereológicos de volume citoplasmático (Vv. Cit. -  $\mu\text{m}^3$ ), nuclear (Vv. Nucl. -  $\mu\text{m}^3$ ), matricial (Vv. Mat. -  $\mu\text{m}^3$ ), celular (Vv. Cel. -  $\mu\text{m}^3$ ), relação núcleo/citoplasma (Vv. N./Vv. Cit.) e densidade numérica (Nv -  $\text{n}^\circ/\mu\text{m}^3$ ) do tecido hepático dos animais.

Variables	CS (n = 5)	CE (n = 9)	CS(6) (n = 4)	CD (n = 9)	OS (n = 5)	OE (n = 9)	OS(6) (n = 4)	OD (n = 9)
Vv. Cit.	0,509 ± 0,076	0,508 ± 0,064	0,486 ± 0,087	0,542 ± 0,037	0,488 ± 0,031	0,506 ± 0,047	0,533 ± 0,087	0,457 ± 0,069
Vv. Nucl.	0,252 ± 0,096	0,282 ± 0,071	0,285 ± 0,115	0,237 ± 0,061	0,255 ± 0,045	0,257 ± 0,050	0,244 ± 0,089	0,294 ± 0,072
Vv. Mat.	0,238 ± 0,023	0,209 ± 0,019	0,228 ± 0,032	0,220 ± 0,035	0,256 ± 0,013	0,235 ± 0,030	0,222 ± 0,030	0,247 ± 0,036
Vv. Cel.	0,761 ± 0,023	0,790 ± 0,019	0,772 ± 0,032	0,780 ± 0,035	0,743 ± 0,013	0,764 ± 0,030	0,777 ± 0,030	0,752 ± 0,036
Vv. N./Vv.Cit.	0,563 (0,40)	0,336 (0,23)	0,429 (0,44)	0,420 (0,69)	0,483 (0,24)	0,732 (0,41)	0,492 (0,23)	0,378 (0,37)
Nv	2,735 ± 0,085	2,840 ± 0,071	2,772 ± 0,117	2,801 ± 0,129	2,670 ± 0,049	2,745 ± 0,111	2,791 ± 0,111	2,702 ± 0,130

**Legenda:** CS = Controle Sedentário; CE = Controle Exercício; CS(6) = Controle Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; CD = Controle Destreinado; OS = Obeso Sedentário; OE = Obeso Exercício; OS(6) = Obeso Sedentário Eutanasiado aos seis meses de idade; OD = Obeso Destreinado. ANOVA One Way com Pós-Teste de Tukey (Média ± Desvio Padrão) e Teste Kruskal-Wallis com Pós-Teste de Dunn (Mediana (Intervalo Interquartil)) para a comparação dos resultados. Valores de significância adotados foram de  $p < 0,05$  para todos os procedimentos.

## **Considerações Finais**

Após a realização das análises e coleta dos dados podemos afirmar que, ao verificar os efeitos do treinamento resistido e destreino de maneira isolada, o treinamento resistido demonstra-se efetivo para preservar a condição hepática de efeitos deletérios provenientes do acúmulo de triglicerídeos intra-hepáticos, não trazendo alterações significativas quanto à composição corporal.

Além disso, quanto utilizada dieta hiperlipídica, o treinamento resistido demonstrou melhores efeitos sobre o tecido hepático de CD em relação a OE e OD e sobre a composição corporal de CE e CD em relação a OS(6) e OD. Logo, este tipo de treinamento apresenta-se como uma alternativa eficaz para o tratamento não farmacológico e de baixo custo da obesidade e da DHGNA, pois somado a uma dieta balanceada possui efetividade para evitar o ganho de massa corporal, acúmulo de tecido adiposo epididimal, além de preservar a condição hepática de efeitos deletérios provenientes do acúmulo de triglicerídeos intra-hepáticos.

## Referências Bibliográficas

1 – Oliveira AMA, Cerqueira EMM, Souza JS, Oliveira AC. Sobrepeso e obesidade infantil: influência de fatores biológicos e ambientais em Feira de Santana, BA. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47(2):144-50. doi: 10.1590/S0004-27302003000200006

2 – Speakman JR. Evolutionary perspectives on the obesity epidemic: adaptive, maladaptive, and neutral viewpoints. *Annu Rev Nutr.* 2013;33:289–317. doi: 10.1146/annurev-nutr-071811-150711

3 – Selby JV, Friedman GD, Quesenberry CP Jr. Precursors of essential hypertension. The role of body fat distribution pattern. *Am J Epidemiol* 1989; 129: 43-53.

4 – Hans TS, Van Leer EM, Seidell JC, Lean MEJ. Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *BMJ* 1995; 311: 1401-1405.

5 – National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Disponível em: <http://www.niddk.nih.gov/health-information/health-topics/weightcontrol/understanding/Pages/understanding-adult-overweight-and-obesity.aspx>. Acesso em: 21/03/16.

6 – Moratoya EE, Carvalhaes GC, Wander AE, Almeida LMMC. Mudanças no padrão de consumo alimentar no Brasil e no mundo. *Revista de Política Agrícola.* 2013;22(1):72-84.

7 – 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. doi: 10.1590/S0004-27302011000200008.

8 – Lamas O, Martínez JA, Martí A. Energy restriction restores the impaired immune response in overweight (cafeteria) rats. *J Nutr Biochem* 2004;15(7):418-25.

9 – Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/noticia/quase-60-dos-brasileiros-estao-acima-do-peso-revela-pesquisa-do-ibge>. Acesso em: 13/01/2016.

10 – IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1699&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1699&id_pagina=1)>. Acessado em 08.08.15

11 – Machado SP, Rodrigues DGC, Viana KDAL, Sampaio HAC. Correlação Entre O Índice De Massa Corporal E Indicadores Antropométricos De Obesidade Abdominal Em Portadores De Diabetes Mellitus Tipo 2. *Rev Bras Promoç Saúde* 2012;25(4):512-20.

12 – Santos HCM, Orange LG, Lima CR, Azevedo MMS, Dourado KF, Andrade SP. Síndrome Metabólica e Outros Fatores de Risco para Doença Cardiovascular em População de Obesos. *Rev Bras Cardiol* 2013;26(6):442-9.

13 – Chaparro M, Guerra I, Muñoz-Linares P, Gisbert JP. Systematic review: antibodies and anti-TNF- a levels in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(9):971-86. doi: 10.1111/j.1365-2036.2012.05057.x

14 – Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 2012;8:457-65. doi: 10.1038/nrendo.2012.49

15 – Jakovljevic DG, Hallsworth K, Zalewski P, Thoma C, Klawe JJ, Day CP, et al. Resistance exercise improves autonomic regulation at rest and haemodynamic response to exercise in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci* 2013;125(3):143-9. doi: 10.1042/CS20120684

16 – Ball D. Metabolic and endocrine response to exercise: sympathoadrenal integration with skeletal muscle. *J Endocrinol* 2015;224(2):R79-95. doi: 10.1530/JOE-14-0408

17 – Musso G, Cassader M, Rosina F, Gambino R. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia* 2012;55:885-904. doi: 10.1007/s00125-011-2446-4

18 – Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Its Connection with Insulin Resistance, Dyslipidemia, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease. *Nutrients* 2013;5:1544-60. doi:10.3390/nu5051544

19 – Anstee QM, Targher G Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:330-44. doi: 10.1038/nrgastro.2013.41

20 – Cotrim HP. Doença hepática gordurosa não alcoólica: história natural. *GMBahia* 2009;79(Supl.2):46-47.

21 – Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012;482:179-85. doi:10.1038/nature10809

22 – Lomonaco R, Sunny NE, Bril F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Current Issues and Novel Treatment Approaches. *Drugs*. 2013 Jan;73(1):1-14. doi: 10.1007/s40265-012-0004-0

23 – Germano MD, Sindorf MAG, Crisp AH, Zwarg BRA, Cruz TMF, Motta GR, et al. Efeito de Diferentes Tempos de Pausas Passivas no Treinamento Intervalado de Alta Intensidade. *RBPFEEX* 2015;9(52):206-15.



24 – Pedersen BK. Muscles and their myokines. *J Exp Biol* 2011;15;214(Pt 2):337-46. doi: 10.1242/jeb.048074

25 – Keating S, Hackett D, Way K, Parker H, Sainsbury A, Baker M, et al. Effect of progressive resistance training on liver fat in overweight adults: Moving beyond weight loss. *J Sci Med Sport* 2015;19S:e88-e104. doi: 10.1016/j.jsams.2015.12.358

26 – Nicklas BJ, Chmelo E, Delbono O, Carr JJ, Lyles MF, Marsh AP. Effects of resistance training with and without caloric restriction on physical function and mobility in overweight and obese older adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2015;101:991–9. doi: 10.3945/ajcn.114.105270

27 –Zelber-Sagi S, Buch A, Yeshua H, Vaisman N, Webb M, Harari G, et al. Effect of resistance training on non-alcoholic fatty-liver disease a randomized-clinical trial. *World J Gastroenterol* 2014; 20(15):4382-92. doi: 10.3748/wjg.v20.i15.4382

28 – Mercken EM, Carboneau BA, Krzysik-Walker SM, Cabo R. Of Mice and Men: The Benefits of Caloric Restriction, Exercise, and Mimetics. *Ageing Res Rev* 2012;11(3):390-8. doi:10.1016/j.arr.2011.11.005

29 – Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both Resistance Training and Aerobic Training Reduce Hepatic Fat Content in Type 2 Diabetic Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatology* 2013;58(4):1287-95. doi: 10.1002/hep.26393

30 – Kawanishi N, Yano H, Mizokami T, Takahashi M, Oyanagi E, Suzuki K. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice. *Brain Behav Immun* 2012;26(6):931-41. doi: 10.1016/j.bbi.2012.04.006

31 – Botero JP, Shiguemoto GE, Prestes J, Marin CT, Do Prado WL, Pontes S, et al. Effects of long-term periodized resistance training on body composition, leptin, resistin and muscle strength in elderly post-menopausal women. *J Sports Med Phys Fitness* 2013;53:289-94. doi: 10.1002/oby.20353

32 – Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile: Review, Synthesis and Recommendations. *Sports Med* 2014;44:211–21. doi: 10.1007/s40279-013-0110-5

33 – You T, Arsenis NC, Disanzo BL, LaMonte MJ. Effects of Exercise Training on Chronic Inflammation in Obesity. *Sports Med* 2013;43(4):243-56. doi: 10.1007/s40279-013-0023-3

34 – 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. doi: 10.1016/j.numecd.2014.01.011

35 – 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.

## Anexo: Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Presidente Prudente

Presidente Prudente, 20/03/2015.

Ilmo.(a) Sr.(a)

**Rafael Junges Moreira ( Alan José Barbosa).**

Ref. Projeto intitulado: "Análise Histomorfométrica e Estereológica do Tecido Hepático de Ratos Submetidos à Dieta Hiperlipídica, Treinamento Intermitente e Destreinamento".

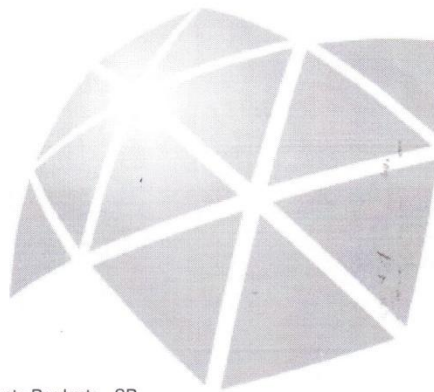
**Processo 04/2011**

Recebemos o seu Relatório Final, o qual foi examinado pelo relator, tendo recebido o parecer anexo.

Decorrente do exposto, esta Comissão, em concordância com o parecerista, considera o relatório APROVADO.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Raul Antonio Fragoso Neto  
COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Comissão de Ética no Uso de Animais  
Rua Roberto Simonsen, 305 - CEP 19060-900 - Presidente Prudente - SP  
Tel (18) 3229-5315 - fax (018) 3229-5488 ou (018) 3229-5303 - ceua@fct.unesp.br

**PARECER DA COMISSÃO de ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA - UNESP**  
**Protocolo de Pesquisa referente ao Projeto nº 004/2011**

**Título do Projeto de Pesquisa:** “Análise histomorfométrica e estereológica do tecido hepático e ratos submetidos à dieta hiperlipídica, treinamento intermitente e destreinamento.”

**Orientadores:** Profa. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim; Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho.

**Orientandos:** Rafael Junges Moreira; Darlene Sassi.

**Colaborador:** Alan José Barbosa Magalhães.

**PARECER:**

Os pesquisadores responderam às solicitações pendentes nos pareceres anteriores de minha autoria no presente Protocolo de Projeto de Pesquisa(nº 004/2011).

O cronograma foi plenamente desenvolvido e explicitado no quadro Acompanhamento do Projeto do Relatório Final apresentado, além dos Resultados Alcançados, justificando o número de ratos obtidos e trabalhados, o que resultou em apresentações da Pesquisa em Congressos e Encontros Científicos.

Não houve, segundo os autores, necessidade de alterar algum aspecto do Projeto no Relatório Final.

Por último, consultando o anexo anterior à capa desse Projeto – Regularização do protocolo 004/2011 (CEUAs), concordo plenamente com as explicações apresentadas.

Portanto, considero o presente Relatório Final APROVADO.

Presidente Prudente, 25 de fevereiro de 2015.

Aprovado.

Pendente (o pesquisador deve responder aos questionamentos do CEUA no máximo 60 dias após a data de emissão deste parecer. O protocolo retornará à reunião do comitê).

Não aprovado.