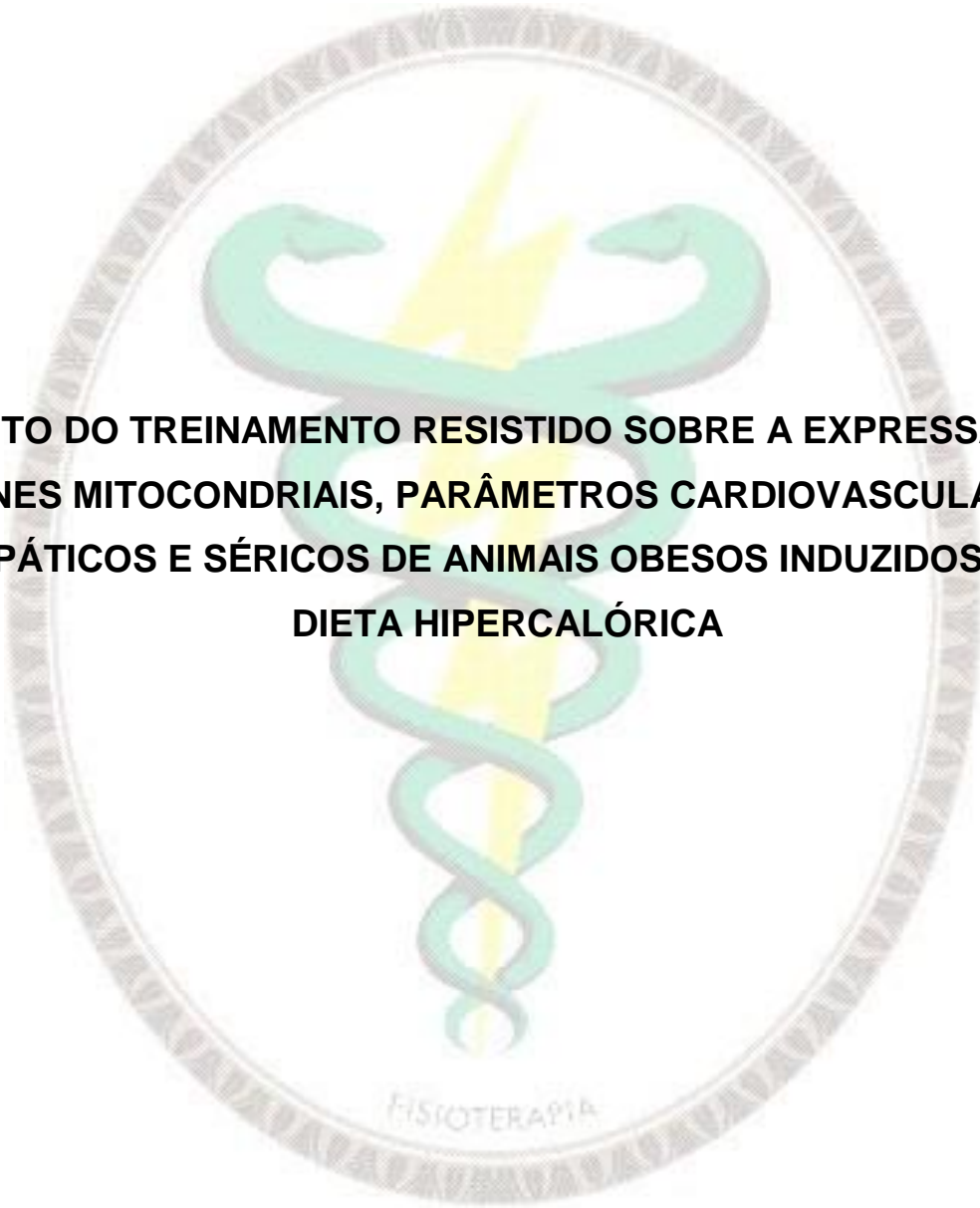


CAROLINE PANCERA LAURINDO



**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A EXPRESSÃO DE
GENES MITOCONDRIAIS, PARÂMETROS CARDIOVASCULARES,
HEPÁTICOS E SÉRICOS DE ANIMAIS OBESOS INDUZIDOS POR
DIETA HIPERCALÓRICA**

**Presidente Prudente
2018**

CAROLINE PANCERA LAURINDO

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A EXPRESSÃO DE
GENES MITOCONDRIAIS, PARÂMETROS CARDIOVASCULARES,
HEPÁTICOS E SÉRICOS DE ANIMAIS OBESOS INDUZIDOS POR
DIETA HIPERCALÓRICA**

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

Orientadora: Prof^ª. Dra. Patrícia Monteiro Seraphim

Presidente Prudente
2018

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação - Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Presidente Prudente

L418e Laurindo, Caroline Pancera.
Efeito do treinamento resistido sobre a expressão de genes mitocondriais, parâmetros cardiovasculares, hepáticos e séricos de animais obesos induzidos por dieta hipercalórica / Caroline Pancera Laurindo. - 2018
70 f. : il.

Orientador: Patrícia Monteiro Seraphim
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2018
Inclui bibliografia

1. Obesidade. 2. Treinamento resistido. 3. Mitocôndrias. I. Laurindo, Caroline Pancera. II. Seraphim, Patrícia Monteiro. III. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. IV. Título.

Claudia Adriana Spindola
CRB-8º/5790



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Presidente Prudente

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES MITOCONDRIAIS, PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, HEPÁTICOS E SÉRICOS DE ANIMAIS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA

AUTORA: CAROLINE PANCERA LAURINDO

ORIENTADORA: PATRICIA MONTEIRO SERAPHIM

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em FISIOTERAPIA, área: Avaliação e Intervenção em Fisioterapia pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. PATRICIA MONTEIRO SERAPHIM
Departamento de Fisioterapia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente

Prof. Dr. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
Departamento de Fisioterapia e Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia / UNESP - Campus de Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. GISELE ALBORGHETTI NAI
Lab. de Anatomia Patológica / Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente (Unoeste)

Presidente Prudente, 18 de maio de 2018

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meus pais, que me proporcionaram uma vida de estudo da qual serei eternamente grata.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força e saúde para reger este trabalho. Dentro disso, agradeço a todas as pessoas que fizeram parte, diretamente ou indiretamente desse processo.

A minha orientadora.

Prof Dra Patrícia Monteiro Seraphim. Felizmente eu encontrei esse caminho que me trouxe até o GPFIS, onde a senhora ensinou todos os passos da pesquisa para alguém que não sabia como sair do lugar. Sua orientação me fez maior, me tornou confiante. Nos momentos tensos ou felizes, cada bronca ou risada fizeram sentido. Muito obrigada, foram dois anos de aprendizado, uma vida de cumplicidade, e oportunidades que eu jamais esquecerei. Que nossa amizade dure para sempre.

A minha família.

Meus pais serviram de base durante toda a minha vida acadêmica, todo apoio possível me foi oferecido, e cada gesto fez diferença. Espero não ter desmerecido cada esforço que fizeram. E minha irmã Giovana que mesmo longe não se fez distante. Me orgulho muito de quem está se tornando.

Aos meus amigos.

Já são 17 anos de amizade com minha melhor amiga Karen. Aprendi muito com você durante todo esse tempo. Obrigada por tudo.

Minhas amigas, Jéssica e Larissa, cuja amizade só cresce, me lembrando de que se vive melhor quando se confia. A vocês agradeço toda a compreensão, paciência e companheirismo.

Aos integrantes do GPFIS, principalmente a Ana Caroline. Demoramos para perceber que juntas éramos melhores. Ainda bem que percebemos a tempo.

A professora Gisele e funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), que nos proporcionaram uma parceria grandiosa.

A todos, muito obrigada.

*A evolução do Homem passa, necessariamente, pela busca do conhecimento.
Para ser vitorioso é preciso ver o que não está visível.*

Sun Tzu

SUMÁRIO

<i>APRESENTAÇÃO</i>	9
<i>RESUMO</i>	10
<i>INTRODUÇÃO</i>	12
<i>ARTIGO 1</i>	14
<i>ARTIGO 2</i>	40
<i>CONCLUSÃO</i>	65
<i>REFERÊNCIAS</i>	66
<i>ANEXO 1</i>	70

APRESENTAÇÃO:

Este modelo de dissertação é referente à pesquisa: *“EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES MITOCONDRIAIS, PARÂMETROS CARDIOVASCULARES, HEPÁTICOS E SÉRICOS DE ANIMAIS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA HIPERCALÓRICA”* realizada no Laboratório do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFIS) da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP – Presidente Prudente. De acordo com as regras do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, a presente dissertação está dividida nas seguintes sessões:

- Resumo/Abstract
- Introdução
- Artigo 1 – “O TREINAMENTO RESISTIDO AMENIZA ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES E HEPÁTICAS DESENCADEADAS PELA OBESIDADE”
- Artigo 2 – “TREINAMENTO DE RESISTÊNCIA MELHORA A EXPRESSÃO DE GENES DA BIOGÊNESE, FUNÇÃO E DINÂMICA MITOCONDRIAL EM RATOS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA HIPERCALÓRICA”
- Conclusão: conclusões gerais da pesquisa.
- Referências: Referentes ao texto de Introdução.
- Anexo 1: Certificado da Comissão de ética no uso de animais (CEUA).

RESUMO

Introdução: A obesidade está ligada a progressão de doenças crônicas associadas à disfunção mitocondrial. O treinamento de resistência pode ser considerado uma abordagem válida para reversão desses fatores ainda pouco explorados na população obesa. **Objetivo:** Investigar o efeito do treinamento resistido sobre a composição corporal, colesterol e glicose circulantes, alterações cardiovasculares e hepáticas e sobre a expressão de genes do metabolismo mitocondrial de ratos obesos induzidos por dieta hipercalórica. **Métodos:** Foram utilizados 36 ratos machos Wistar, aleatoriamente separados em Controle Sedentário (CS), Controle Exercitado (CE), Obeso Sedentário (OS) e Obeso Exercitado (OE). Para os animais obesos foi ofertada uma dieta hipercalórica (D.H). O treinamento resistido (T.R) foi progressivo durante 12 semanas com base na Repetição Máxima (RM), com carga a partir de 50% até 100% PC. Os tecidos, coração, pulmão e fígado foram coletados para análise histológica, sangue para análises séricas, músculo esquelético gastrocnêmio para análise da expressão de genes pela técnica de RT-PCR e tecido adiposo para mensuração da adiposidade. Foram utilizados os testes de Anova- One Way e Kruskall Wallis. **Resultados:** O Grupo OS se destacou pela quantidade de triglicerídeos ($p < 0,0001$) e glicose circulantes ($p < 0,001$). Foi detectado aumento na espessura da artéria pulmonar e ventrículo direito (VD) no grupo OS ($p < 0,0001$). Na análise Fractal o VD apresentou diferença entre OS e CE ($p = 0,04$). Na análise de hepática, o grupo OS apresentava uma quantidade de macrófagos acima da encontrada para os demais grupos ($p < 0,0001$), além do triplo de quadros de esteatose ($p = 0,0002$). A expressão de Ppargc1a (PGC1- α) foi 4x maior no grupo CE do que no grupo OS, e 3x maior no grupo OE ($p = 0,007$) comparado ao OS. No grupo OS houve diminuição de Mfn2 ($p = 0,02$), aumento de Fis1 ($p = 0,006$), redução em ~65% na expressão de Nos3 ($p = 0,02$), e acréscimo de 60% na expressão de MnSod ($p = 0,008$) em comparação a OE. **Conclusão:** A prática de exercício resistido foi eficaz em amenizar o desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades como dislipidemia, esteatose hepática e complicações cardiovasculares, além de manter e melhorar a expressão de genes mitocondriais.

Palavras Chave: Obesidade; Treinamento Resistido; Mitocôndrias.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is linked to the progression of chronic diseases associated to mitochondrial dysfunction. Resistance training can be considered a valid approach to reverse these factors that are still poorly explored in obese. **Objective:** To address the effect of resistive training on body composition, circulating cholesterol and glucose, cardiovascular and hepatic alterations, and on mitochondrial gene expression. Noting the role of resistance training in preventing, maintaining or increasing these factors. **Methods:** Thirty - six male Wistar rats were divided in Control Sedentary (CS), Control Exercised (CE), Obese Sedentary (OS) and Obese Exercised (OE) groups. Obese animals were offered a hypercaloric diet (HD). Resistance training (RT) was progressive for 12 weeks based on Maximum Repetition (MR), with load from 50% to 100% of BW. The tissues, heart, lung and liver were collected for histological analysis, blood for serum analysis, gastrocnemius skeletal muscle for analysis of gene expression by the RT-PCR and periepididymal adipose tissue was removed to measure adiposity level. Anova-One Way and Kruskal Wallis tests were used. **Results:** OS group was distinguished by the amount of circulating triglycerides ($p < 0.0001$) and glucose ($p < 0.001$). Increased thickness of the pulmonary artery and right ventricle (RV) in the OS group was detected ($p < 0.0001$). In the Fractal analysis the RV presented difference between OS and CE ($p = 0.04$). In hepatic analysis, the OS group had a higher amount of macrophages than the other groups ($p < 0.0001$), in addition to triple steatosis ($p = 0.0002$). The expression of Ppargc1a (PGC1- α) was 4x higher in the CE group than in the OS group, and 3x higher in the OE group ($p = 0.007$) compared to OS. There was decreased Mfn2 ($p = 0.02$), increased Fis1 ($p = 0.006$), reduced (~ 65%) Nos3 ($p = 0.02$), and 60%-increased MnSod genes expression ($p = 0.008$) compared to OE. **Conclusion:** Regular resistive training was effective in softening the development of obesity and its comorbidities, such as dyslipidemia, hepatic steatosis and cardiovascular complications, in addition to maintaining and improving the expression of mitochondrial genes.

Keywords: Obesity; Resistance Training; Mitochondria.

INTRODUÇÃO

Apesar dos diversos fatores envolvidos no desenvolvimento da Obesidade⁽¹⁾, a inatividade física⁽²⁾ e o consumo de alimentos industrializados ricos em açúcar ainda são os principais determinantes para esta doença⁽³⁾. Esse fenômeno epidêmico está ligado a progressão de doenças crônicas dependentes da nutrição, como diabetes tipo II, distúrbios cardiovasculares, doença hepática não alcoólica, resistência à insulina e a disfunção mitocondrial, que vem sendo apontada como desordem inicial para tais doenças⁽⁴⁻⁸⁾.

O exercício físico vem se destacando como uma das principais abordagens para a prevenção e reversão das alterações inclusas como consequências da adiposidade visceral⁽⁹⁾, capaz de aumentar o conteúdo mitocondrial e atividade da cadeia respiratória, efeito não encontrado em intervenções como a restrição calórica⁽¹⁰⁾.

Nesse âmbito, podemos citar o treinamento de resistência como uma abordagem válida podendo reverter a hipertrofia ventricular direita compensatória, a hipertensão pulmonar em modelo animal⁽¹¹⁾ e promover resultados satisfatórios no tratamento de pacientes com doença hepática não alcoólica⁽¹²⁾. Estudo recente indica que essa modalidade pode até mesmo diminuir a quantidade de gordura no fígado de forma mais eficiente que o treinamento aeróbio⁽¹³⁾. Quando aplicado a função mitocondrial^(14,15) foi capaz de promover ganho na expressão de proteínas envolvidas na biogênese e dinâmica mitocondrial (processos de produção e manutenção das mitocôndrias)⁽¹⁶⁾. Entretanto, tais achados ainda foram pouco explorados na crescente população exposta ao sobrepeso. Logo, o presente estudo teve como objetivo abordar o

efeito da obesidade induzida por dieta hipercalórica em marcadores de composição corporal, mudanças de colesterol e glicose circulantes, alterações cardiovasculares e hepáticas, assim como visar as alterações no metabolismo mitocondrial. Observando o papel do treinamento de resistência em prevenir, manter ou aumentar esses fatores.

O TREINAMENTO RESISTIDO AMENIZA ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES E HEPÁTICAS DESENCADEADAS PELA OBESIDADE

Caroline Pancera Laurindo, Karen C. Rego Gregorio, Ana Caroline Rippi Moreno,
Gisele Alborghetti Nai, Patrícia Monteiro Seraphim

RESUMO

Introdução: O padrão alimentar e o estilo de vida sedentário são determinantes para obesidade. Nesse contexto, o exercício resistido pode ser eficaz na remoção plasmática de colesterol livre e melhora de fatores do metabolismo. **Objetivo:** Verificar o efeito do treinamento resistido sobre a composição corporal e as complicações como a dislipidemia, parâmetros cardiovasculares e hepáticos de ratos alimentados com dieta hipercalórica. **Métodos:** Foram utilizados 36 ratos machos Wistar, aleatoriamente separados em Controle Sedentário (CS), Controle Exercitado (CE), Obeso Sedentário (OS) e Obeso Exercitado (OE). Para os animais obesos foi ofertada uma dieta hipercalórica (D.H). O treinamento resistido (T.R) foi progressivo durante 12 semanas com base na Repetição Máxima (RM). Os tecidos, coração, pulmão e fígado foram coletados para análise histológica e sangue para análises séricas. Foram utilizados os testes de Anova- One Way e Kruskal Wallis. **Resultados:** O Grupo OS apresentou o dobro de triglicerídeos circulantes ($p < 0,0001$) e elevação de 42% na glicemia ($p < 0,001$) comparando com CE. Foi detectado um aumento na espessura da artéria pulmonar e ventrículo direito (VD) no grupo OS ($p < 0,0001$). Na análise Fractal o VD apresentou diferença entre OS e CE ($p = 0,04$). Na análise de hepática, o grupo OS apresentava uma quantidade de macrófagos acima da encontrada para os grupos CS ($p < 0,0001$), CE e OE ($p = 0,004$) respectivamente. O grupo OS apresentou o triplo de quadros de esteatose comparada ao grupo OE ($p = 0,0002$). **Conclusão:** o Treinamento resistido de 12 semanas é eficaz em minimizar o desenvolvimento de obesidade e comorbidades mesmo em ratos que ingeriram dieta hipercalórica.

ABSTRACT

Introduction: The dietary pattern and the sedentary lifestyle are determinants for obesity. In this context, resistance exercise may be effective in removing plasma free cholesterol and improving metabolism factors. **Objective:** To verify the effect of resistance training on body composition and complications such as dyslipidemia, cardiovascular and hepatic parameters of rats fed a hypercaloric diet. **Methods:** Thirty - six male Wistar rats, randomly separated in the Control Sedentary (CS), Control Exercised (CE), Obese Sedentary (OS) and Obese Exercised (OE) were used. Obese animals were offered a hypercaloric diet (HD). Resistance training (RT) was progressive for 12 weeks based on Maximum Repetition (MR). Tissues, heart, lung and liver were collected for histological analysis and blood for serum analysis. Anova-One Way and Kruskal Wallis tests were used. **Results:** The OS group presented double circulating triglycerides ($p < 0.0001$) and a 42% increase in glycemia ($p < 0.001$) compared to CE. An increase in the thickness of the pulmonary artery and right ventricle (RV) in the OS group was detected ($p < 0.0001$). In the Fractal analysis the RV presented difference between OS and CE ($p = 0.04$). In hepatic analysis, the OS group had a higher amount of macrophages than those found for the CS ($p < 0.0001$), CE and OE groups ($p = 0.004$), respectively. The OS group had triple steatosis compared to the OE group ($p = 0.0002$). **Conclusion:** Twelve-week resistance training is effective to soften the development of obesity and comorbidities even in rats that ate a high-calorie diet.

INTRODUÇÃO

Atualmente a obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Estima-se que até 2025 essa epidemia tenha alcançado 2,3 bilhões de pessoas, dentre elas 70 milhões de crianças no mundo todo⁽¹⁾.

Estudos comprovam que o excesso de gordura corporal presente nos quadros de obesidade é precursora de doenças como a diabetes tipo II, hipertensão, dislipidemia e resistência à insulina, sendo relacionada diretamente à síndrome metabólica^(2,3) e ao aumento do risco de complicações cardiovasculares, morbidade e mortalidade em adultos que apresentaram sobrepeso na infância⁽⁴⁾.

A mudança no padrão alimentar dos últimos anos, de alimentos naturais para os altamente calóricos^(5,6) e o estilo de vida sedentário são fatores determinantes para a obesidade^(7,8). Nesse contexto, pesquisas recentes evidenciaram os efeitos benéficos do treinamento resistido (T.R) pela indução da hipertrofia muscular, e atuação na diminuição da massa gorda, promovendo alteração na composição corporal^(9,10), e, portanto, servir como fator de proteção contra a Diabetes, Hipertensão, Sarcopenia e Osteopenia⁽¹¹⁻¹³⁾. Em jovens saudáveis o exercício resistido foi capaz de acelerar a remoção plasmática de colesterol livre e o metabolismo do LDL (lipoproteína de baixa densidade) além de promover redução da circunferência abdominal e melhorar fatores envolvidos no metabolismo hepático ^(14,15). Na crescente população com sobrepeso ainda são escassos os estudos que utilizam o T.R na avaliação das alterações geradas pela obesidade, e o quão efetivo o mesmo seria para preveni-las ou amenizá-las.

Sendo assim, o treinamento resistido é uma abordagem em ascensão com

diversos efeitos positivos já relatados na literatura, e pode mostrar eficiência quando aplicado na população com sobrepeso e obesidade⁽¹⁶⁾.

O objetivo do estudo foi verificar o efeito do Treinamento Resistido na composição corporal e complicações como elevação na glicemia de jejum, dislipidemia, alterações histológicas cardiovasculares e hepáticas em ratos obesos induzidos por dieta hipercalórica.

METODOLOGIA:

Todos os procedimentos a seguir foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT)– UNESP, campus Presidente Prudente, sob número de protocolo 01/2017.

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram utilizados 36 ratos machos Wistar pesando 200 ± 50 g, provenientes do Biotério central da UNESP – campus de Botucatu. Os animais foram alocados no Biotério II da FCT - UNESP, com temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro/escuro (12/12h) controlados. De forma aleatória, os animais foram devidamente separados em 3 ratos por gaiolas, e divididos nos seguintes grupos: Controle Sedentário (CS/n=9), Controle Exercitado (CE/n=9), Obeso Sedentário (OS/n=9) e Obeso Exercitado (OE/n=9). Esses animais permaneceram sem qualquer tipo de intervenção durante 7 dias para adaptação ao ambiente. Após esse período, foi realizada a adaptação ao equipamento utilizado no Treinamento Resistido e o teste de repetição máxima, para posteriormente dar início ao Treinamento Resistido e a implementação da Dieta Hipercalórica de forma simultânea.

DIETA HIPERCALÓRICA

Os animais Controle (CS/CE) receberam ração padrão para roedores (PRIMOR, SP -Brasil) e água filtrada livremente durante todo o período de intervenção. Já para os animais Obesos (OS/OE) foi ofertada uma dieta hipercalórica (D.H), composta de água, ração padrão, mortadela, bolacha recheada, chocolate branco e refrigerante calculando 1200 Kcal por caixa três vezes por semana. Além do fator calórico, estes alimentos foram selecionados

por serem alimentos com elevadas quantidades de açúcar, gordura e sódio, todos industrializados, inclusive embutidos. O peso corpóreo (P.C) dos animais foi registrado semanalmente desde a chegada até a eutanásia, assim como a ingestão alimentar. O cálculo das quilocalorias (Kcal) foi realizado pela subtração da oferta calórica pelo valor ingerido (sobras).

TREINAMENTO RESISTIDO

O treinamento resistido (T.R) imposto aos animais Exercitados (CE/OE) foi realizado utilizando uma escada vertical (80° de inclinação), e uso de carga acoplada à cauda do animal. Na adaptação ao equipamento os animais realizaram duas sessões intervaladas em 24h, realizando apenas 3 escaladas sem carga por animal. Após a adaptação ao equipamento (24h), foi realizado o teste de repetição máxima (RM), em que a partir do peso do animal foi determinada a carga inicial para o teste, estimada em 50% do P.C. A carga foi fixada na porção proximal da cauda do animal utilizando anilhas de peso. Se o animal realizasse a escalada com sucesso, 30g eram adicionados à carga que o animal carregava, e assim progressivamente até que o animal não conseguisse realizar a escalada voluntariamente. Quando isso ocorria, determinávamos como RM o último peso em que o animal realizou a escalada completa sem falhas. Foram realizadas no máximo oito repetições, com intervalo de um minuto entre elas⁽¹⁷⁾.

Depois de 72h, o T.R de forma progressiva foi iniciado com 50% de peso da RM e progredindo a cada duas semanas para 75%, 85%, 95% até estabilizar em 100% do peso da RM nas últimas semanas. O treinamento era composto de quatro repetições da escalada com 1 minuto de descanso entre elas, três vezes por semana, durante doze semanas.

EUTANÁSIA

Para coleta de material biológico, foi realizada eutanásia dos animais em 12h de jejum, e 24h após a última sessão de treinamento. Foram coletados: Sangue intraventricular, Tecido adiposo periepídídimo, Fígado, Pulmão e Coração dos animais. Para obtenção do peso relativo de Tecido Adiposo (T.A) utilizamos a seguinte fórmula: $\text{Peso Absoluto T.A} \times 100 / \text{Peso Corpóreo Final}$.

A linha temporal de intervenção pode ser observada na Figura 1.

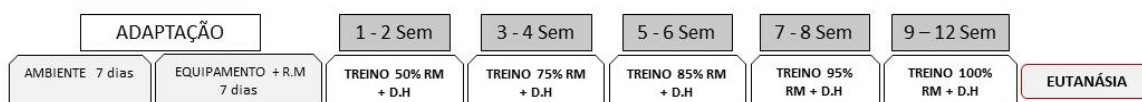


Figura 1. Linha do tempo de intervenções realizadas ao longo de 12 semanas. RM = Repetição Máxima; D.H= Dieta Hipercalórica.

ANÁLISES SÉRICAS

Para as análises séricas, o soro foi separado por meio da centrifugação (centrífuga marca Eppendorf 5415R, Hamburgo - Alemanha) a 1500 rpm durante 15 minutos a 4°C e, posteriormente, refrigerado. Para verificação de Glicose, Colesterol total e Triglicerídeos, utilizamos Kits Comerciais (BIOCLIN, Minas Gerais - Brasil), através de um método enzimático com leitura de concentração em espectrofotômetro (CELM SB-190, Barueri - SP) em 505nm.

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Os tecidos coração, fígado e pulmão foram coletados na eutanásia. O pulmão foi coletado com a traqueia e coração em conjunto. Após a retirada do coração foi injetado formol tamponado a 10% lentamente através da traqueia para fixação do parênquima pulmonar. Depois de 24h, foram retirados fragmentos dos lobos pulmonar de cada animal para análise microscópica.

Metade do coração (secção em corte coronal em nível de átrios e ventrículos) foi submetida ao processamento histológico. O fígado foi seccionado em corte transversal.

Os cortes foram fixados em formol tamponado a 10% (Cinética Indústria Química, São Paulo, Brasil) durante 24 horas e submetidos a processamento histológico habitual, com inclusão em parafina (Dinâmica Reagentes Analíticos, São Paulo - Brasil). Cortes de 5 μ foram obtidos e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) (Dolles, São Paulo - Brasil), por tricrômio de Masson (Merck KgaA, Darmstadt - Alemanha) para quantificação das fibras colágenas (análise fractal), e pelo método PAS-Azul de Alcian (Merck, Germany) para a avaliação da espessura das arteríolas pulmonares.

O processamento das lâminas foi realizado no Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), localizado no Campus I, Presidente Prudente, SP.

A análise histopatológica foi realizada às cegas por único observador, utilizando-se microscópio óptico comum (NIKON, Labophot - Japão). Os parâmetros avaliados foram:

No pulmão: espessamento da parede das artérias pulmonares. A medida da espessura foi realizada em duas áreas da artéria pulmonar, utilizando-se o sistema de análise de imagem Leica Application Suíte LAS 4.2.0 (Leica, Microsystems - Suíça) em um aumento de 400x na coloração de PAS.

No fígado, foi determinada a presença e tipo de esteatose (0=ausente, 1= presente de forma focal, 2= presente de forma difusa) por avaliação qualitativa de todo o parênquima. A contagem das células de K upffer (macr ofagos) foi realizada em 10 campos de grande aumento, o que corresponde a cerca de

1mm², de cada amostra⁽¹⁸⁾. Ambas as análises utilizando a coloração de Hematoxilina Eosina (HE).

No coração a hipertrofia cardíaca foi avaliada pela medida da espessura da parede ventricular nos níveis papilares. Para medir a espessura da parede livre do ventrículo direito (VD), do septo interventricular e da parede livre do ventrículo esquerdo (VE), foram realizadas 2 medidas de cada parede utilizando-se o sistema de análise de imagem Leica Application Suíte LAS 4.2.0 (Leica Microsystems, Suíça)⁽¹⁹⁾ em lamina corada com HE.

Dimensão fractal:

Para verificar a análise da dimensão fractal do ventrículo direito (VD) e ventrículo esquerdo (VE), as lâminas coradas com Tricômio de Masson foram fotografadas e passaram pelo processo de binarização, para leitura e análise da dimensão fractal através do método de box-counting, utilizando o software Image J (Instituto Nacional de Saúde, Estados Unidos – NIH), disponível online (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

O software Image J considera o box-counting em duas dimensões, permitindo a quantificação da distribuição de pixels nesse espaço. A análise fractal das lâminas histológicas é a relação entre a resolução e a escala avaliada, considerando como resultado: $DF = (\text{Log } Nr / \log r - 1)$, sendo Nr a quantidade de elementos iguais necessários para preencher o objeto original e r a escala aplicada ao objeto. Com isso, a dimensão fractal calculada com o software Image J ficará sempre entre 0 e 2, não distinguindo texturas diferentes.

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Os valores obtidos foram expressos em média± erro padrão da média. Para a comparação entre grupos utilizou-se o teste ANOVA one way com pós teste de Tukey, e o teste não paramétrico de Kruskall Wallis para resultados qualitativos (Esteatose Hepática). Valores de P inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significantes. Utilizou-se o software GraphPad Prism, versão 6.0.

RESULTADOS:

Quando observamos as características dos animais, percebemos que os grupos OS e OE ingeriram uma quantidade de calorias superior aos demais, o que provavelmente provocou ganho maior de peso corporal e peso de tecido adiposo. O grupo OS apresentou uma média de peso corporal 16% maior em relação ao grupo OE, 22% ao CS e 24% quando comparado a CE, além de apresentar o triplo de tamanho de tecido adiposo epididimal encontrado nos controles CS e CE (Tabela 1).

Tabela 1. Características dos Animais

	Peso Corpóreo (g)	Calorias Ingeridas (Kcal)	Peso Absoluto T.A	Peso Relativo T.A
CS	418,7±9,26	537,5±45,70	5,522±0,42	1,317±0,09
OS	539,4±17,49*	846,3±35,71 [#]	15,72±1,28*	2,88±0,19*
CE	405,8±17,87	586,5±56,16	5,900±0,91	1,41±0,17
OE	448,4±15,97	782,2±32,89 [#]	10,30±0,65 [#]	2,28±0,09 [#]

Valores expressos em média ± erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). T.A = Tecido Adiposo (g). Para peso corpóreo, pesos teciduais e calorias ingeridas: *p<0,0001 vs CS, CE e OE.; [#]p<0,0001 vs CS e CE.

Os valores séricos avaliados mostram que a glicemia no grupo OS está 42% acima do encontrado em CE, o que não aconteceu no grupo OE, no qual a concentração de glicose estava na média dos controles, cerca de 30% abaixo comparando com OS (p<0,001). Não foram encontrados resultados significantes para Colesterol Total sérico, no entanto, ao ser avaliada a concentração de triglicerídeos totais circulantes, OS apresentou valor de 123mg/dL, o que caracteriza o dobro do encontrado em CE (p<0,0001), além de ser 37% superior a OE (Tabela 2).

Tabela 2. Índices Séricos

	Glicose (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
CS	151,7±8,77	57,16±2,30	50,89±9,55
OS	212,4±7,72*	56,92±3,93	123,9±27,7 [#]
CE	122,2±11,53	53,43±2,03	60,05±7,95
OE	147,9±13,50	72,44±7,33	77,93±2,96

Valores expressos em média ± erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). Para todos os parâmetros avaliados: *p<0,001 vs CS, CE e OE; [#]p<0,0001 vs CS e CE.

Em relação aos resultados histológicos cardiovasculares (Figura 2), foi detectado incremento na espessura da Artéria Pulmonar do grupo OS (p<0,0003) comparado aos demais grupos, o que foi acompanhado de aumento da espessura do Ventrículo Direito (p<0,0001). Já o grupo OE, embora não tenha apresentado aumento da espessura da artéria pulmonar, apresentou aumento da espessura do VD quando comparado aos grupos CS e CE também (p<0,0003). Os grupos OS, CE e OE apresentaram aumento de espessura do ventrículo esquerdo comparados ao grupo CS (p<0,01). No ventrículo direito houve a diferença entre os grupos OS e CE quanto a densidade das fibras de colágeno encontradas, sugerindo um coração mais denso no grupo OS (p=0,04). Não foram obtidos resultados significativos na Dimensão Fractal do VE (Figura 3).

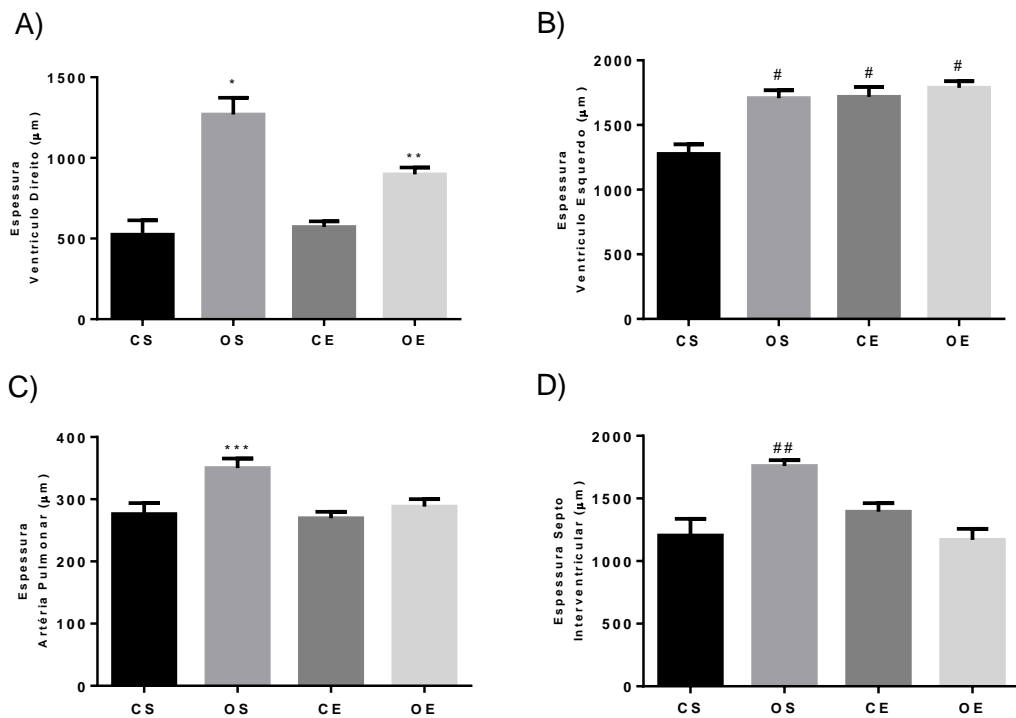


Figura 2. Parâmetros Cardiovasculares. A) Espessura do Ventrículo Direito; B) Espessura do Ventrículo Esquerdo; C) Espessura da Artéria Pulmonar; D) Espessura Septo Intraventricular. Valores expressos em média \pm erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). * $p=0,0001$ vs CS, CE e OE; ** $p=0,0003$ vs CS e CE; *** $p=0,0003$ vs CS, CE e OE; # $p<0,01$ vs CS, ## $P=0,0143$ vs OE.

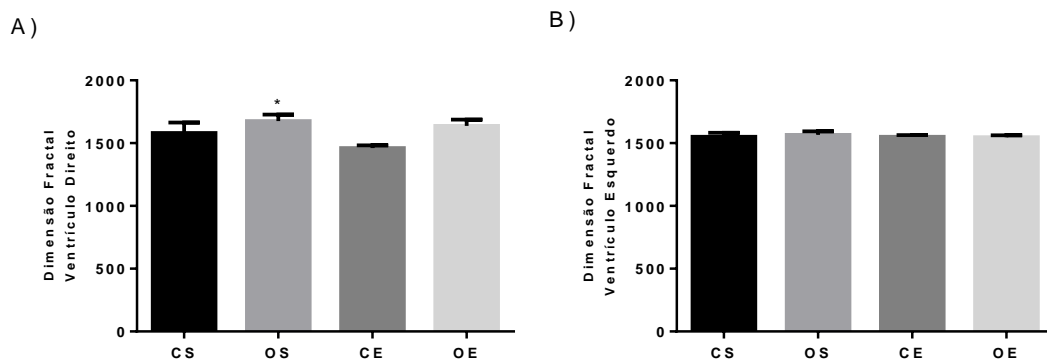


Figura 3. Dimensão Fractal. A) Ventrículo Direito; B) Ventrículo Esquerdo. Valores expressos em média \pm erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). * $p= 0,04$ vs CE. Não foram obtidos resultados significativos no Ventrículo Esquerdo.

No tecido hepático (Figura 4), a análise mostrou que o grupo OS apresentava uma quantidade de macrófagos 42%, 14% e 15% acima da

encontrada para os grupos CS ($p < 0,0001$), CE e OE ($p = 0,004$), respectivamente.

A presença de esteatose hepática não foi encontrada nos grupos CS e CE. Por outro lado, o grupo OS apresentou o triplo de quadros de esteatose encontrada no grupo OE, com predominância para esteatose difusa, que também não foi encontrada no grupo OE. Sendo assim, OS mais uma vez se destacou pelo acúmulo de gordura tecidual, dessa vez no fígado, em relação aos demais grupos ($p < 0,0002$).

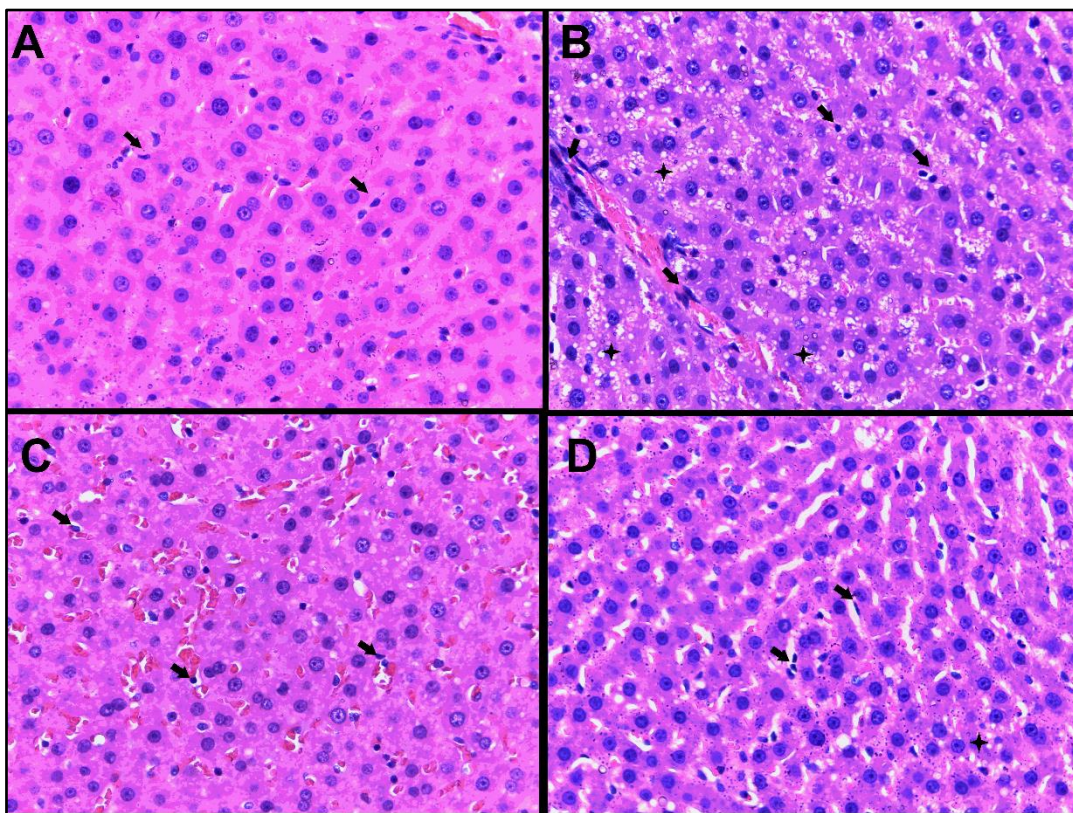


Figura 4. Avaliação histológica do Fígado. A – Grupo Controle Sedentário (CS): Parênquima Hepático sem alterações. B - Grupo Obeso Sedentário (OS): Esteatose microvesicular do tipo difusa. C - Grupo Controle Exercitado (CE): Parênquima Hepático sem alterações. D - Grupo Obeso Exercitado (OE): Parênquima com discreto foco de esteatose. Hematoxilina-eosina, aumento de 400x. Células de Küpffer indicadas pelas setas. Estrela representa presença de esteatose.

DISCUSSÃO:

A obesidade vem se instalando rapidamente na população mundial devido principalmente a hábitos de vida pouco saudáveis. A rotina diária de vida requer urgência na hora de comer e propicia pouco tempo disponível para a prática de atividade física no dia-a-dia.

No presente estudo, foi avaliado o efeito do treinamento físico resistido em ratos alimentados por dieta hipercalórica sobre parâmetros de composição corporal e de possíveis alterações sobre morfologia do coração e do fígado, como terapia preventiva de desenvolvimento de futuras doenças cardíacas e hepáticas. Foi constatado que o consumo da dieta hipercalórica acarretou diversas modificações na composição corporal dos animais. O grupo Obeso Sedentário (OS) alcançou os maiores valores circulantes de triglicerídeos e glicose sanguínea, o maior peso corporal final, consumo calórico, peso de tecido adiposo relativo corporal e absoluto. De acordo com a literatura, o consumo de dieta rica em calorias, carboidratos, lipídeos e açúcar, desencadeia dislipidemia e aumento de gordura corporal relacionada a diversos outros efeitos^(20,21), que podem ou não ser controlados e até mesmo revertidos pela prática de exercício físico⁽²²⁾.

É provável que toda essa adiposidade visceral contribuiu para o aparecimento de uma maior quantidade de macrófagos encontradas no fígado e quadros de esteatose hepática nos animais OS. Embora não tenha sido determinada, sabe-se de estudos na literatura que o papel do tecido adiposo em modelos de obesidade induzida correlaciona-se com a secreção de citocinas pró-inflamatórias pelos adipócitos, o que é prejudicial para o funcionamento adequado e manutenção de homeostasia corpórea^(23,24).

A prevalência da obesidade, inflamação e taxas de triglicerídeos elevadas são determinantes para o surgimento da esteatose hepática e desenvolvimento da doença hepática não alcoólica (DHNA)⁽²⁵⁾. Quando alcançados os limites de estoque dos adipócitos, outras células como os hepatócitos passam a armazenar, principalmente, triglicerídeos. Esse estoque em excesso é precursor da DHNA via vários processos, como a resistência à insulina⁽²⁶⁾. Segundo Singh et al (2015), o desenvolvimento de DHNA aumenta a exposição dos indivíduos ao risco de mortalidade por doença hepática em 13%, 25% por complicações cardiovasculares e até 28% de chance de malignidade como câncer^(27,28).

Em contrapartida, os grupos exercitados alimentados ou não com dieta hipercalórica foram capazes de manter a concentração de triglicerídeos semelhante a do grupo controle. O grupo OE manteve o peso corpóreo, e apresentou presença de macrófagos reduzida em comparação à OS, além de poucos quadros de esteatose hepática, sugerindo um efeito benéfico do treinamento resistido no fígado. Ou seja, avaliando o efeito do treinamento resistido foi possível verificar que os grupos que executaram o treinamento apresentaram controle das variáveis de perfil lipídico que foram alteradas com a dieta hipercalórica (grupo OS e OE). Estudos utilizando outras modalidades de exercício tais como natação e/ou corrida em esteira rolante não foram capazes de neutralizar os efeitos colaterais da D.H^(29,30), indicando a eficiência do treinamento resistido no controle destes parâmetros.

Acreditamos que a sobrecarga imposta pela composição corporal dos animais obesos tenha influência sobre as espessuras encontradas, como o aumento de VD no grupo OS. Porém, sabe-se também que citocinas inflamatórias estão diretamente relacionadas à saúde cardiovascular. O aumento

na expressão de Interleucina-6 (IL-6) e de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), prejudica a expressão de Óxido Nítrico Sintase (eNOS) e estimula a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), sobrecarga oxidativa e deterioração da vasodilatação, o que leva a hipertensão, trombose e disfunção endotelial⁽³¹⁾. Embora não tenha sido avaliado a expressão de IL6 e de TNF- α , a espessura de artéria pulmonar encontrada nos animais OS se encaixa nessa hipótese, já que concomitante a ela também encontramos uma hipertrofia ventricular direita. Ambos os quadros estão diretamente relacionados, já que o aumento de pressão causado pela espessura da artéria pulmonar força uma hipertrofia adaptativa no VD, que precisa realizar contrações mais vigorosas para que o sangue alcance os pulmões⁽³²⁾. Essa compensação realizada pelo VD pode levar a insuficiência na função diastólica e possível morte do ventrículo⁽³³⁾. Outra possibilidade relacionada a hipertensão pulmonar e hipertrofia do VD é a síndrome da hipoventilação, encontrada em pacientes obesos, em que devido ao acúmulo excessivo de tecido adiposo, o paciente desenvolve apneia do sono ou a síndrome da hipoventilação, em que ambas, após oclusões das vias aéreas e quadros de hipóxia, seguida de acidose, resultam na hipertensão arterial pulmonar⁽³⁴⁾.

Também observamos aumento da espessura de VE dos grupos exercitados e obeso sedentário em relação ao CS, e um aumento na espessura de Septo Interventricular no OS em relação aos demais, indicando que animais que receberam dieta mas não praticaram treinamento físico, provavelmente apresentavam hipertensão arterial, o que não ocorreu com os animais obesos treinados. Somando todos os resultados de histologia cardíaca, acreditamos que o aumento da espessura dos ventrículos dos obesos se deva principalmente

à sobrecarga imposta pela composição corporal dos animais, e o aumento encontrado para os animais exercitados se deva principalmente à hipertrofia cardíaca adaptativa pós-exercício⁽³⁵⁾.

A dimensão fractal é uma análise matemática que visa a caracterização de estruturas não simétricas⁽³⁶⁾. Um estudo recente⁽³⁷⁾ pode relacionar o aumento da dimensão fractal em Ventrículo Direito com a hipertrofia e insuficiência decorrentes da hipertensão pulmonar induzida. Em nossos resultados, utilizamos a dimensão fractal na densidade do tecido com base na análise das fibras de colágeno. Nesse caso, a expansão anormal de colágeno já foi associada à fibrose e rigidez do tecido miocárdico⁽³⁸⁾. Pressupomos que o aumento da Dimensão fractal em VD no grupo OS possa ser correlacionado com os demais resultados de espessura de VD e artéria pulmonar devido ao acometimento da obesidade, expondo esses animais a terem um ventrículo mais rígido e patologicamente hipertrofiado.

Assim, com os resultados apresentados neste estudo podemos concluir que o Treinamento resistido de 12 semanas é eficaz em minimizar o desenvolvimento de obesidade e comorbidades, como dislipidemia, a DHNA e as alterações histológicas cardiovasculares mesmo em ratos que ingeriram dieta hipercalórica.

REFERÊNCIAS

1. ABESO - Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica [Internet]. Quase 60% dos brasileiros estão acima do peso, revela IBGE. 2015 [cited 2018 Jun 30]. Available from: <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>
2. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, et al. The metabolic syndrome [Internet]. Vol. 29, Endocrine Reviews. Oxford University Press; 2008 [cited 2018 Jun 30]. p. 777–822. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/er.2008-0024>
3. Sarrafzadegan N, Gharipour M, Sadeghi M, Nouri F, Asgary S, Zarfeshani S. Differences in the prevalence of metabolic syndrome in boys and girls based on various definitions. ARYA Atheroscler [Internet]. 2013 Jan [cited 2018 Jun 30];9(1):70–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23696762>
4. Saki F, Ashkani-Esfahani S, Karamizadeh Z. Investigation of the relationship between retinol binding protein 4, metabolic syndrome and insulin resistance in Iranian obese 5-17 year old children. Iran J Pediatr [Internet]. 2013 Aug [cited 2018 Jun 30];23(4):396–402. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24427492>
5. Popkin BM, Nielsen SJ. The sweetening of the world's diet. Obes Res [Internet]. 2003 Nov [cited 2018 Jun 30];11(11):1325–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2003.179>
6. Reedy J, Krebs-Smith SM. Dietary Sources of Energy, Solid Fats, and Added Sugars among Children and Adolescents in the United States. J Am

- Diet Assoc [Internet]. 2010 Oct [cited 2018 Jun 30];110(10):1477–84.
Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20869486>
7. Grimes CA, Riddell LJ, Campbell KJ, Nowson CA. Dietary Salt Intake, Sugar-Sweetened Beverage Consumption, and Obesity Risk. *Pediatrics* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2018 Jun 30];131(1):14–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23230077>
 8. World Health Organization. Obesity and Overweight [Internet]. 2017. Available from: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
 9. Xiao T, Fu Y-F. Resistance training vs. aerobic training and role of other factors on the exercise effects on visceral fat. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [Internet]. 2015 May [cited 2018 Jun 30];19(10):1779–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26044220>
 10. Mangine GT, Hoffman JR, Gonzalez AM, Townsend JR, Wells AJ, Jajtner AR, et al. The effect of training volume and intensity on improvements in muscular strength and size in resistance-trained men. *Physiol Rep* [Internet]. 2015 Aug [cited 2018 Jun 30];3(8):e12472. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26272733>
 11. da Cunha Nascimento D, Alsamir Tibana R, Benik F, Fontana KE, Ribeiro Neto F, Santos de Santana F, et al. Sustained effect of resistance training on blood pressure and hand grip strength following a detraining period in elderly hypertensive women: a pilot study. *Clin Interv Aging* [Internet]. 2014 Jan [cited 2018 Jun 30];9:219. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24477221>
 12. Mosti MP, Kaehler N, Stunes AK, Hoff J, Syversen U. Maximal strength

- training in postmenopausal women with osteoporosis or osteopenia. *J Strength Cond Res* [Internet]. 2013 Oct [cited 2018 Jun 30];27(10):2879–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23287836>
13. Strasser B, Pesta D. Resistance training for diabetes prevention and therapy: Experimental findings and molecular mechanisms [Internet]. Vol. 2013, BioMed Research International. Hindawi; 2013 [cited 2018 Jun 30]. p. 805217. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24455726>
 14. Luis J, De CGC. Effects of Resistance Training on Low Density Lipoprotein. *Soc Bras Med do Esporte* [Internet]. 2010 [cited 2018 Jun 30];16(9):71–7. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbme/v16n1/a14v16n1.pdf>
 15. Smart NA, King N, McFarlane JR, Graham PL, Dieberg G. Effect of exercise training on liver function in adults who are overweight or exhibit fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *British Journal of Sports Medicine* [Internet]. 2016 Jun 17 [cited 2018 Jun 30];bjssports-2016-096197. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27317790>
 16. Ten Hoor GA, Plasqui G, Ruiters RAC, Kremers SPJ, Rutten GM, Schols AMWJ, et al. A new direction in psychology and health: Resistance exercise training for obese children and adolescents. *Psychol Health* [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 30];31(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26155905>
 17. Leite RD, Durigan R de CM, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, Souza M das G, 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. *Metabolism* [Internet].

- 2013 Oct 1 [cited 2018 Jun 25];62(10):1477–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049513001509>
18. Mori GG, De Moraes IG, Nunes DC, Castilho LR, Poi WR, Capaldi MLPM. Biocompatibility evaluation of alendronate paste in rat's subcutaneous tissue. *Dent Traumatol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2018 Jun 30];25(2):209–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19290902>
 19. Gay-Jordi G, Guash E, Benito B, Brugada J, Nattel S, Mont L, et al. Losartan Prevents Heart Fibrosis Induced by Long-Term Intensive Exercise in an Animal Model. de Windt LJ, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2018 Jun 30];8(2):e55427. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0055427>
 20. Castellanos Jankiewicz AK, Rodríguez Peredo SM, Cardoso Saldaña G, Díaz Díaz E, Tejero Barrera ME, Del Bosque Plata L, et al. Adipose Tissue Redistribution Caused By an Early Consumption of a High Sucrose Diet in a Rat Model. *Nutr Hosp* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2018 Jun 30];31(n06):2546–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26040364>
 21. Sakr HF. Modulation of metabolic and cardiac dysfunctions by swimming in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet: possible role of adiponectin. *J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Jun 30];64(2):231–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23756398>
 22. Muller C, Americo AL, Neto G, Evangelista F, Farah V, Fiorino P. Exercise training prevents hypertension, dyslipidemia and renal lipid deposition in young rats fed a high-fat diet [Internet]. Vol. 29, *FASEB Journal*. 2015 [cited

- 2018 Jun 30]. Available from:
https://www.fasebj.org/doi/abs/10.1096/fasebj.29.1_supplement.964.6
23. Polyzos SA, Mantzoros CS. Leptin in Health and Disease: Facts and Expectations at its Twentieth Anniversary [Internet]. Vol. 64, *Metabolism: Clinical and Experimental*. Elsevier; 2015 [cited 2018 Jun 30]. p. 5–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25467841>
24. Zoller H, Tilg H. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma. *Metabolism* [Internet]. 2016 Aug [cited 2018 Jun 30];65(8):1151–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26907206>
25. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease a systematic review [Internet]. Vol. 313, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2015 [cited 2018 Jun 30]. p. 2263–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26057287>
26. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* [Internet]. 2005 May 2 [cited 2018 Jun 30];115(5):1343–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15864352>
27. Adams LA, Lymp JF, St. Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study [Internet]. Vol. 129, *Gastroenterology*. 2005 [cited 2018 Jun 30]. p. 113–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16012941>
28. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis

- Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies [Internet]. Vol. 13, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015 [cited 2018 Jun 30]. p. 643–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24768810>
29. Carmo MA V, Pinto ABG, Queiroz KB, Sá RG, Silva ME, Lima WG, et al. Swimming Exercise Did Not Ameliorate the Adverse Effects of High-Sugar Diet in Young Rats. *J Exerc Physiol online* [Internet]. 2017 [cited 2018 Jun 30];20(3):177–83. Available from: https://www.asep.org/asep/asep/JEPonlineJUNE2017_EC_Oliveira.pdf
30. Yan-Yan Chan C, Kendig M, Boakes RA, Rooney K. Low-volume exercise can prevent sucrose-induced weight gain but has limited impact on metabolic measures in rats. *Eur J Nutr* [Internet]. 2013 Oct 7 [cited 2018 Jun 30];52(7):1721–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23224031>
31. Molica F, Morel S, Kwak B, Rohner-Jeanrenaud F, Steffens S. Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. *Thromb Haemost* [Internet]. 2015 May 17 [cited 2018 Jun 30];113(03):553–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25338625>
32. Ortega FB, Lavie CJ, Blair SN. Obesity and Cardiovascular Disease. *Circ Res* [Internet]. 2016 May 27 [cited 2018 Jun 30];118(11):1752–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27230640>
33. Ryan JJ, Archer SL. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension: Disorders of metabolism, angiogenesis and adrenergic signaling in right ventricular failure. *Circ Res* [Internet]. 2014 Jun 20 [cited 2018 Jun

- 30];115(1):176–88. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24951766>
34. Lavie CJ, Alpert MA, Arena R, Mehra MR, Milani R V., Ventura HO. Impact of Obesity and the Obesity Paradox on Prevalence and Prognosis in Heart Failure. *JACC Hear Fail* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Jun 30];1(2):93–102. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24621833>
35. Lee B-A, Oh D-J. The effects of long-term aerobic exercise on cardiac structure, stroke volume of the left ventricle, and cardiac output. *J Exerc Rehabil* [Internet]. 2016 Feb 23 [cited 2018 Jun 30];12(1):37–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26933658>
36. Kirkby MJ. The fractal geometry of nature. *Earth Surf Process Landforms* [Internet]. 1983 Jul [cited 2018 Jun 30];8(4):406–406. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/esp.3290080415>
37. Pacagnelli FL, Sabela AKD de A, Mariano TB, Ozaki GAT, Castoldi RC, Carmo EM do, et al. Fractal Dimension in Quantifying Experimental-Pulmonary-Hypertension-Induced Cardiac Dysfunction in Rats. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 30];107(1):33–9. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20160083>
38. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Remodelação Cardíaca: Conceitos, Impacto Clínico, Mecanismos Fisiopatológicos e Tratamento Farmacológico. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 30];106(1):62–9. Available from: http://www.scielo.br/pdf/abc/2015nahead/pt_0066-782x-abc-20160005.pdf

TREINAMENTO DE RESISTÊNCIA MELHORA A EXPRESSÃO DE GENES DA BIOGÊNESE, FUNÇÃO E DINÂMICA MITOCONDRIAL EM RATOS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA HIPERCALÓRICA

Caroline Pancera Laurindo, Karen C. Rego Gregorio, Ana Caroline Rippi Moreno, Patrícia Monteiro Seraphim

RESUMO

Introdução: A prática regular de exercícios físicos é um meio útil para combater o sobrepeso e desencadeia diversos estímulos como a biogênese mitocondrial. Uma disfunção da biogênese pode ser associada a estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas. **Objetivo:** Verificar o efeito do Treinamento Resistido e da Dieta Hipercalórica durante doze semanas sobre a expressão de genes que codificam proteínas relacionadas à biogênese, função e dinâmica mitocondrial em músculo esquelético de ratos. **Métodos:** Foram utilizados 36 ratos machos Wistar, aleatoriamente separados em Controle Sedentário (CS), Controle Exercitado (CE), Obeso Sedentário (OS) e Obeso Exercitado (OE). Para os animais obesos foi ofertada uma dieta hipercalórica (D.H). O treinamento resistido (T.R) foi progressivo durante 12 semanas com base na Repetição Máxima (RM). Músculo esquelético Gastrocnêmio foi coletado para análise da expressão de genes pela técnica de Rt-PCR e tecido adiposo epididimal para verificar adiposidade. Foi utilizado o teste de Anova- One Way ($p < 5\%$). **Resultados:** O grupo OS apresentou aumento de Peso Absoluto de Tecido Adiposo ($p < 0,0001$). A expressão de Ppargc1a (PGC1- α) foi 4x maior no grupo CE do que no grupo OS, e 3x maior no grupo OE ($p = 0,007$) comparado a OS. No grupo OS houve diminuição de Mfn2 ($p = 0,02$), aumento de Fis1 ($p = 0,006$), redução em ~65% na expressão de Nos3 ($p = 0,02$), e acréscimo de 60% na expressão de MnSod ($p = 0,008$) em comparação a OE. **Conclusão:** A prática regular de exercício resistido permite uma manutenção ou melhora na expressão de genes mitocondriais, o que pode sugerir melhorias na performance da organela, mesmo sob ingestão de dieta hipercalórica.

ABSTRACT

Introduction: The regular practice of physical exercises is a useful means to combat overweight and triggers various stimuli such as mitochondrial biogenesis. A dysfunction of biogenesis may be associated with oxidative stress and neurodegenerative diseases.

Objective: To verify the effect of the Resistance Training and the Hypercaloric Diet during twelve weeks on the expression of genes coding for proteins related to biogenesis, function and mitochondrial dynamics in skeletal muscle of rats.

Methods: Thirty - six male Wistar rats, randomly separated in the groups Control Sedentary (CS), Control Exercised (CE), Obese Sedentary (OS) and Obese Exercised (OE). Obese animals were offered a hypercaloric diet (HD). Resistance training (RT) was progressive for 12 weeks based on Maximum Repetition (MR). Skeletal muscle gastrocnemius was collected for analysis of gene expression by the RT-PCR and periepididymal adipose tissue to measure adiposity level. The Anova-One Way test ($p < 5\%$) was used.

Results: The OS group showed an increase in Absolute Adipose Tissue Weight ($p < 0.0001$). The expression of Ppargc1a (PGC1- α) was 4x higher in the EC group than in the OS group, and 3x higher in the OE group ($p = 0.007$) compared to OS. In the OS group there was decrease in Mfn2 ($p = 0.02$), increase in Fis1 ($p = 0.006$), reduction of ~ 65% in Nos3 ($p = 0.02$), and 60%-increase in MnSod genes expression ($p = 0.008$) compared to OE.

Conclusion: Regular resistive training allows a maintenance or improvement in mitochondrial gene expression, suggesting gain in the performance of the organelle, even under hypercaloric diet intake.

INTRODUÇÃO

Considerada uma epidemia mundial, a obesidade vem alcançando números alarmantes nas últimas décadas^(1,2). Estudo prevê que crianças americanas serão obesas aos 35 anos, sendo que 70% da população atual já apresenta sobrepeso⁽³⁾, com projeção de diminuição da expectativa de vida e aumentos nos custos de saúde⁽⁴⁾.

A prática regular de exercícios físicos é um meio útil para combater as alterações desencadeadas pelo sobrepeso, e estimular a biogênese mitocondrial⁽⁵⁾. A mitocôndria é uma organela celular com função essencial na produção energética (ATP)^(6,7). Uma desordem ou disfunção na sua biogênese pode acarretar em alterações na produção energética, como as observadas na síndrome metabólica⁽⁸⁾, envelhecimento, estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer⁽⁹⁻¹¹⁾.

Vias de sinalização estão envolvidas com a biogênese^(12,13), como a ação de proteínas quinase, que ativam a transcrição e tradução do PGC1- α (coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma)⁽¹⁴⁾. O PGC-1 α é um regulador envolvido na biogênese e nos processos de Fusão e Fissão para manutenção das mitocôndrias⁽¹⁵⁾. Na biogênese mitocondrial, o PGC-1 α interage com fatores para a transcrição como os fatores respiratórios nucleares (NRF-1 e NRF-2)^(16,17) que induzem o fator de transcrição mitocondrial A (mtTFA ou TFAM) para a replicação do DNA mitocondrial (mtDNA) e produção final de novas mitocôndrias⁽¹⁸⁾.

Nos processos de Fissão e Fusão, em que a primeira pode ser definida como uma interligação entre as mitocôndrias, e a segunda leva a separação dos

conteúdos ineficazes, existe a atuação de diversas proteínas, como Mitofusina 2 (Mfn2) para Fusão, e Fissão1 (Fis1) para a Fissão⁽¹⁹⁾. O óxido nítrico (NO) tem participação nesses processos a longo prazo, pois atua na ativação de Monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) e consequente PGC1- α ⁽²⁰⁾.

Porter et al expôs jovens saudáveis a um treinamento de resistência durante doze semanas, e chegou a resultados de adaptação mitocondrial com ganhos na capacidade respiratória⁽²¹⁾. Resultados direcionados à população obesa relataram redução na expressão de proteínas da biogênese mitocondrial e da cadeia respiratória, os quais não foram revertidos mesmo após seis semanas de exercício aeróbio⁽²²⁾.

Considerando o exposto acima, são necessárias evidências para recomendar uma modalidade de exercício que melhore e mantenha a função mitocondrial, inclusive na crescente população com sobrepeso. O treinamento resistido pode impulsionar esses fatores, manter a saúde e função das mitocôndrias e exercer papel preventivo em função do envelhecimento celular. Para tais fins este estudo pretende verificar o efeito do Treinamento Resistido e da Dieta Hipercalórica durante doze semanas sobre a expressão de genes que codificam proteínas relacionadas à biogênese, função e dinâmica mitocondrial em músculo esquelético de ratos.

MÉTODOS

Todos os procedimentos a seguir foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT)– UNESP, câmpus Presidente Prudente, sob número de protocolo 01/2017.

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram utilizados 36 ratos machos Wistar pesando 200 ± 50 g, provenientes do Biotério central da UNESP – campus de Botucatu. Os animais foram alocados no Biotério II da FCT - UNESP, com temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro/escuro (12/12h) controlados. De forma aleatória, os animais foram devidamente separados em 3 ratos por gaiolas, e divididos nos seguintes grupos: Controle Sedentário (CS/n=9), Controle Exercitado (CE/n=9), Obeso Sedentário (OS/n=9) e Obeso Exercitado (OE/n=9). Esses animais permaneceram sem qualquer tipo de intervenção durante 7 dias para adaptação ao ambiente. Após esse período, foi realizada a adaptação ao equipamento utilizado no Treinamento Resistido e o teste de repetição máxima, para posteriormente dar início ao Treinamento Resistido e a implementação da Dieta Hipercalórica de forma simultânea.

DIETA HIPERCALÓRICA

Os animais Controle (CS/CE) receberam ração padrão para roedores (PRIMOR, SP -Brasil) e água filtrada livremente durante todo o período de intervenção. Já para os animais Obesos (OS/OE) foi ofertada uma dieta hipercalórica (D.H), composta de água, ração padrão, mortadela, bolacha recheada, chocolate branco e refrigerante calculando 1200 Kcal por caixa três vezes por semana. Além do fator calórico, estes alimentos foram selecionados

por serem alimentos com elevadas quantidades de açúcar, gordura e sódio, todos industrializados, inclusive embutidos. O peso corpóreo (P.C) dos animais foi registrado semanalmente desde a chegada até a eutanásia, assim como a ingestão alimentar. O cálculo das quilocalorias (Kcal) foi realizado pela subtração da oferta calórica pelo valor ingerido (sobras).

TREINAMENTO RESISTIDO

O treinamento resistido (T.R) imposto aos animais Exercitados (CE/OE) foi realizado utilizando uma escada vertical (80° de inclinação), e uso de carga acoplada à cauda do animal. Na adaptação ao equipamento os animais realizaram duas sessões intervaladas em 24h, realizando apenas 3 escaladas sem carga por animal. Após a adaptação ao equipamento (24h), foi realizado o teste de repetição máxima (RM), em que a partir do peso do animal foi determinada a carga inicial para o teste, estimada em 50% do P.C. A carga foi fixada na porção proximal da cauda do animal utilizando anilhas de peso. Se o animal realizasse a escalada com sucesso, 30g eram adicionados à carga que o animal carregava, e assim progressivamente até que o animal não conseguisse realizar a escalada voluntariamente. Quando isso ocorria, determinávamos como RM o último peso em que o animal realizou a escalada completa sem falhas. Foram realizadas no máximo oito repetições, com intervalo de um minuto entre elas⁽²³⁾.

Depois de 72h, o T.R de forma progressiva foi iniciado com 50% de peso da RM e progredindo a cada duas semanas para 75%, 85%, 95% até estabilizar em 100% de peso da RM nas últimas semanas. O treinamento era composto de quatro repetições da escalada com 1 minuto de descanso entre elas, três vezes

por semana, durante doze semanas.

EUTANÁSIA

Para coleta de material biológico, foi realizada eutanásia dos animais em 12h de jejum e 24h após última sessão de exercícios. Foram coletados: Músculo Gastrocnêmio e Tecido adiposo periepididimal. Todos os tecidos foram imediatamente pesados e armazenados após a coleta. Para obtenção do peso relativo de Músculo Gastrocnêmio utilizamos o peso final dos animais e o peso absoluto de músculo na seguinte fórmula: $\text{Peso Absoluto Gastrocnêmio} \times 100 / \text{Peso Corpóreo Final}$. Foi realizado o cálculo do Coeficiente de eficácia alimentar (CEA) a partir da razão entre ganho de peso e consumo alimentar total em gramas e o Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) para consumo calórico⁽²⁴⁾. A sequência de intervenções pode ser observada na Figura 1.

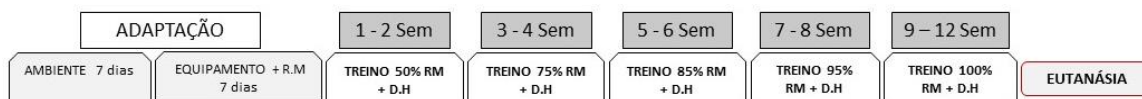


Figura 1. Linha do tempo de intervenções realizadas ao longo de 12 semanas. RM = Repetição Máxima; D.H= Dieta Hipercalórica.

ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

Para a expressão dos genes envolvidos na biogênese e função mitocondrial (Tabela 1) em músculo esquelético gastrocnêmio utilizamos a técnica de RT-PCR. Para isso foi extraído RNA total em reagente BRAZOL (LGCBio, SP - Brasil), seguindo as instruções do fabricante.

Após a leitura de concentração de RNA total por amostra, foi realizado o ensaio de Transcriptase Reversa, através do uso de 2µg de RNA total, primers

randômicos e enzima MLV Reverse Transcriptase (200U/ul; PROMEGA, Wisconsin - EUA) em termociclador Techne (Cole Parmer, UK). Em seguida, o ensaio da reação em cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação dos genes foi realizado também obedecendo às sugestões do fabricante (Promega Biotecnologia do Brasil), com posterior visualização do gel de agarose a 1,2% corado com brometo de etídio em transluminador com luz UV (KODAK Molecular Imaging Software Version 4.0,2-User e Eletronic UV Transilluminator Ultra. Lum. Inc. Nova Iorque - EUA). As imagens obtidas foram fotografadas e avaliadas pelo software gratuito Scion Image (Scion Corporation, Maryland - EUA.). A expressão dos genes alvos foram normalizados pela expressão do gene constitutivo Gapdh.

Tabela 1. Genes e respectivos Primers utilizados

GENE	SENSE 5'-3'	ANTI-SENSE 5'-3'	pb	N.C	T°C
Ppargc1-α	TGACTGGCGTCATTCAGGAG	CAGGGCAGCACACTCTATGT	84	35	57°
mtTFA	TGATCTCATCCGTCGCAGTG	TGCATTCAGTGGGCAGAAGT	205	37	55°
Cycs	CTTGGGCTAGAGAGCGGGA	CTCCCCAGGTGATACCTTTGT	259	39	55°
Nrf1	TACAAGGCGGGGACAGATA	ACTCCATCTGGGCCATTAGC	94	39	55°
Mfn2	ATCTGGACCTGAATCGGCAC	AGAGCAGGGACATCTCGTTTC	123	38	56°
Fis1	TTTGAATACGCCTGGTGCCT	GCCTTTTCATATTCCTTGAGCCG	164	40	56°
Nos3	TGACCCTCACCGATAACAACA	CGGGTGTCTAGATCCATGC	64	41	55°
MnSod	ACCGAGGAGAAGTACCACGA	CCTGAACCTTGACTCCCAC	285	33	55°
Gapdh	CCTGGTATGACAATGAATATGG	AGGATACTGAGAGCAAGAGAGA	122	30	58°

pb= Pares de Base. N.C= Número de Ciclos; T°C= Temperatura de Anelamento.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos foram expressos em média± erro padrão da média. Para a comparação entre grupos utilizou-se o teste ANOVA one way. Valores de P inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significantes, através do software GraphPad Prism, versão 6.0.

RESULTADOS:

Tratando-se da composição corporal, os resultados encontrados mostraram que os grupos submetidos ao T.R mantiveram o peso corpóreo, mesmo com incremento de D.H (Figura 2). Enquanto CE ingeriu uma média de 586Kcal por semana, o grupo OS consumiu 846Kcal, cerca de 30% mais do que CE ($p < 0,0001$), e até 8% mais do que OE (782Kcal). Desde as primeiras semanas, o grupo OS já demonstrou um ganho de peso corpóreo maior do que os demais. Esse fato foi acompanhado pelo maior percentual de massa gorda. Ao final, os animais OS possuíam Peso Absoluto de Tecido Adiposo 30% maior que OE, 54% e 59% comparado a CS e CE ($p < 0,0001$). O grupo CE ainda apresentou um aumento de 16% ($p = 0,0069$) no peso relativo do músculo gastrocnêmio em relação a OS e OE (Figura 3). O peso absoluto de músculo gastrocnêmio não foi significativo.

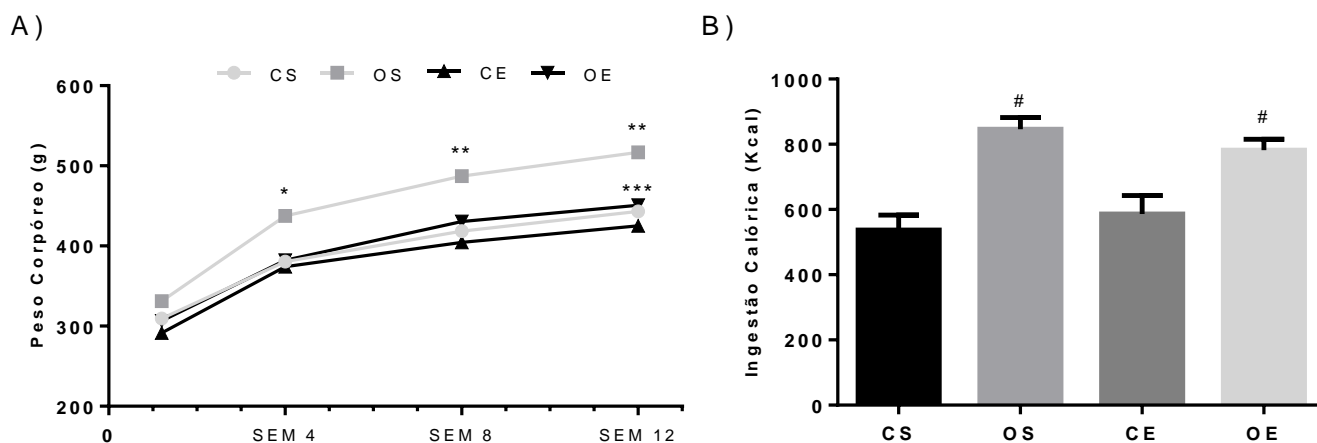


Figura 2- A) Evolução no ganho de peso corporal durante doze semanas de intervenção. B) Ingestão Calórica total em doze semanas. Valores expressos em média \pm erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). * $p = 0,0432$ vs CE, ** $p < 0,0001$ vs CS, CE e OE, *** $p < 0,01$ vs CE. # $p < 0,0001$ vs CS e CE.

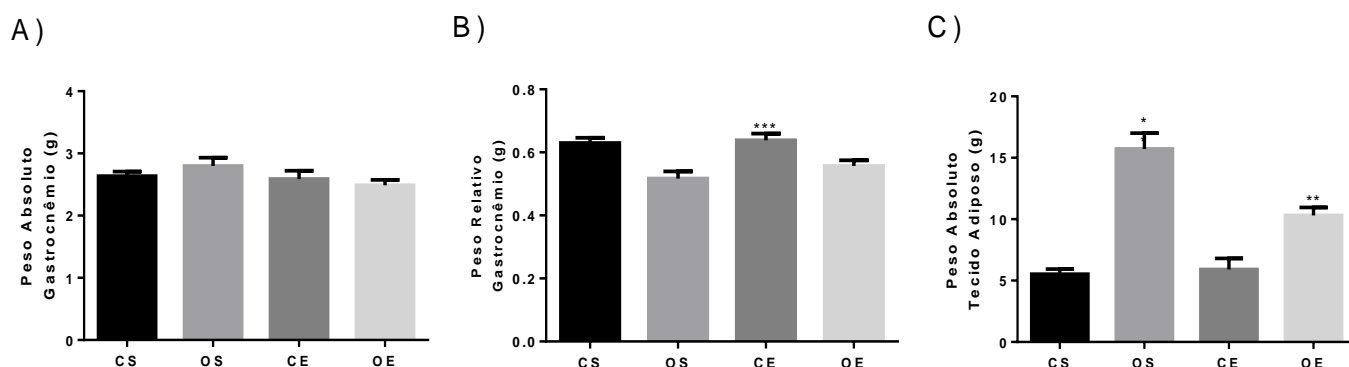


Figura 3. A) Peso Absoluto de Músculo de Gastrocnêmio; B) Peso Relativo de Músculo de Gastrocnêmio; C) Peso Absoluto de Tecido Adiposo. Valores expressos em média \pm erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). * $p < 0,0001$ vs CS, CE e OE, ** $p < 0,0001$ vs CS e CE, *** $p = 0,0002$ vs OS e OE.

Na Tabela 2 observamos os resultados para o Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC), e Coeficiente de eficácia alimentar (CEA), o grupo OS se diferenciou do grupo CE ($p = 0,0191$) no CEA, mas não foram obtidos resultados significativos para CGPCC.

Tabela 2. Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) e Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)

	CS	OS	CE	OE
CGPCC	0,2112 \pm 0,02	0,2153 \pm 0,01	0,1760 \pm 0,01	0,1693 \pm 0,01
CEA	0,02557 \pm 0,002	0,03248 \pm 0,003*	0,02049 \pm 0,001	0,02557 \pm 0,002

Valores expressos em média \pm erro padrão da média dos grupos Controle Sedentário (CS), Obeso Sedentário (OS), Controle Exercitado (CE) e Obeso Exercitado (OE). * $p = 0,0191$ vs CE.

Na Figura 4 encontram-se as expressões de genes que codificam proteínas relacionadas à biogênese e função mitocondrial. A expressão de Ppargc1- α (PGC1- α) foi 4x maior no grupo CE do que no grupo OS, e 3x maior no grupo OE ($p = 0,0007$). Em geral, os grupos exercitados demonstraram um incremento no conteúdo de RNAm dessas proteínas, é até mesmo possível verificar, que no grupo OS há um pequeno decaimento nos valores.

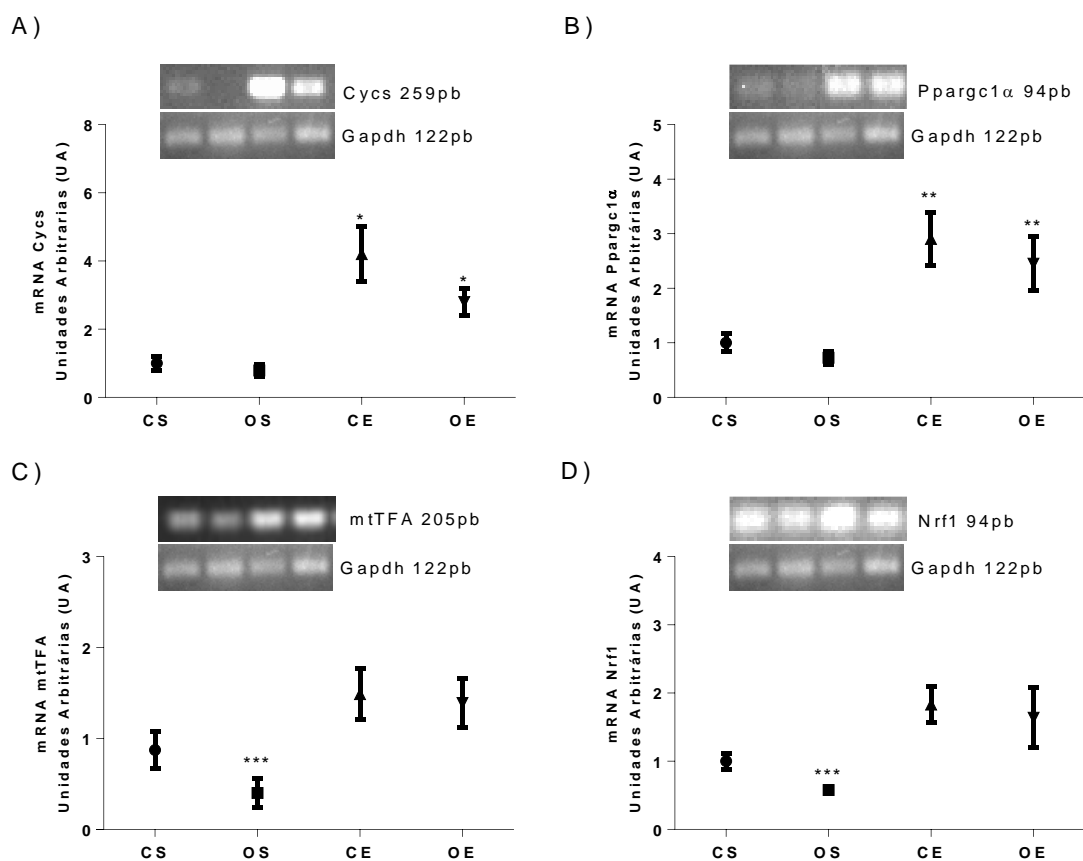


Figura 4. Expressão de Genes da biogênese e função mitocondrial. A) Cycs (citocromo c) ; B) Ppargc1α (PGC1-α) ; C) mtTFA (Fator de transcrição mitocondrial A); D) Nrf1 (Fator de respiração nuclear 1). Valores expressos em média ± erro padrão da média. * $p < 0,0001$ vs CS e OS; ** $p = 0,0007$ vs CS e OS; *** $p = 0,01$ vs CE e OE.

Os processos de Fissão e Fusão respectivamente representados por Fis1 e Mfn2 (Figura 5) tiveram resultados opostos. A expressão de Mfn2 foi mais evidente nos animais submetidos ao T.R, e com diminuição em OS ($p = 0,02$), enquanto que o T.R parece ter inibido a produção de Fis1, e a D.H estimulado ($p = 0,006$).

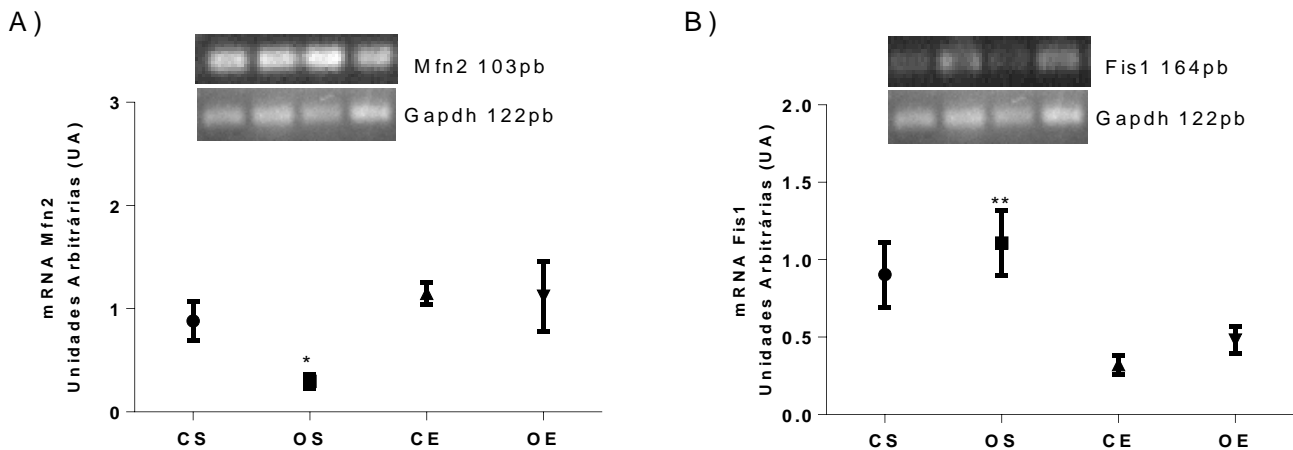


Figura 5. Genes da Fusão e Fissão Mitochondrial. A) Mfn2 (mitofusina 2); B) Fis1 (Fissão 1). Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p=0,02$ vs CE e OE; ** $p=0,006$ vs CE e OE.

Na Figura 6, na análise de expressão de Oxido Nitrico Sintase Endotelial, representada por Nos3, verifica-se que o grupo OS apresentou redução em 70% e 60% na expressão de Nos3 em comparação aos grupos CE e OE, respectivamente ($p=0,02$). Na avaliação de Superóxido Dismutase (MnSod), percebe-se que os animais exercitados apresentaram valores mais baixos do que CS e OS, com OS apresentando um acréscimo de 60% na expressão (* $p=0,008$) comparado ao grupo OE.

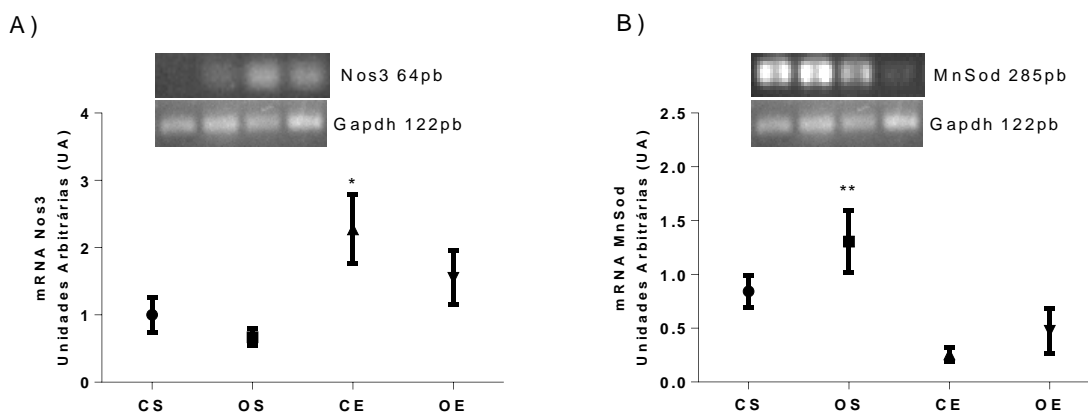


Figura 6. Genes Complementares de estresse oxidativo e função endotelial. A) Nos 3 (Oxido Nítrico sintase endotelial); B) MnSod (Superóxido Dismutase). Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p=0,02$ vs OS; ** $p=0,008$ vs CE e OE.

DISCUSSÃO:

A dieta hipercalórica tem se tornado uma regra comum na ingestão alimentar de produtos industrializados no nosso dia-a-dia. Com ela, uma gama de alterações metabólicas surge e culmina no desenvolvimento da obesidade⁽²⁵⁾. No presente estudo observou-se que os grupos que se alimentaram da dieta hipercalórica realmente apresentaram desde a terceira semana de ingestão um incremento no peso corpóreo médio. O coeficiente de eficácia alimentar é uma variável interdependente do peso corporal, sugerindo o papel fundamental da dieta nesta evolução. Este resultado foi confirmado com aumento do CEA e massa gorda adquirida pelos animais OS ao longo das 12 semanas. Opostamente, o treinamento resistido foi fundamental para evitar este ganho acentuado de peso ao longo das 12 semanas de intervenção, e controle do CEA, assim como estudo anterior sugeriu que a prática de exercício está relacionada à redução desse coeficiente⁽²⁶⁾, caracterizando-se como uma importante ferramenta para evitar o ganho de peso exagerado, mesmo sob ingestão de dieta hipercalórica. Em relação ao peso de tecido muscular, a prática do T.R pode incrementar o peso relativo do grupo CE, mas não em OE. Outra pesquisa realizada com jovens obesos⁽²⁷⁾ indica que o T.R melhora a força e massa magra muscular, mas que o processo inflamatório dos indivíduos obesos pode induzir essas alterações. Acreditamos que a adiposidade dos animais obesos influenciou esse resultado, já que os animais OE tinham um maior peso corporal, impedindo que a carga imposta desenvolvesse um aumento de massa muscular.

As mitocôndrias atuam diretamente na homeostasia celular, seu papel na produção de ATP é de longe um dos mais eficientes de todo o organismo. Por meio da cadeia transportadora de elétrons (CTE), essa organela utiliza cinco

complexos proteicos para fosforilação de ADP em ATP⁽²⁸⁾. Sabendo disso, pode-se afirmar que danos gerados à produção mitocondrial afetam diretamente o suporte energético e atividades das células.

Observando os resultados de genes da biogênese e função mitocondrial, evidenciamos o quão eficiente o T.R pode ser na manutenção desses marcadores. A expressão de Ppargc1a (PGC1- α) tem sua atuação influenciada pelo estímulo de outras proteínas, como as proteínas cinases, as quais são ativadas pelas contrações musculares no decorrer do treinamento físico⁽²⁹⁾. Como imaginávamos, a expressão de outros genes, cuja ação é desencadeada pelo PGC1- α ⁽³⁰⁾ também foram influenciados pelo T.R. NRF-1 e mtTFA demonstraram um aumento de sua expressão nos grupos submetidos ao T.R, e ainda um declínio no grupo OS. Sendo assim, a malignidade da junção de obesidade com sedentarismo não atingiu somente o conjunto de genes da produção das mitocôndrias, como também pode ter afetado genes da atividade dos complexos que compõem a Cadeia Transportadora de Elétrons, visto que a expressão de Cycs (citocromo c) acompanhou os resultados dos marcadores biogênicos. Estudos recentes concordam quanto à indução da disfunção mitocondrial por meio da obesidade^(31,32) e apontam o estresse oxidativo como principal fator determinante. Como as mitocôndrias utilizam O₂ na respiração celular, acabam produzindo EROs (espécies reativas de oxigênio) durante este processo. Na CTE, os complexos I e III são os principais produtores de EROs⁽³³⁾. Quando liberados, podem ser convertidos em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pela enzima MnSod, cuja função é proteger o mtDNA de processos apoptóticos e estresse oxidativo. Neste estudo, a expressão de MnSod indica que há uma provável sobrecarga na produção de EROs nos animais OS, forçando a maior

produção e atividade da MnSod. Eventualmente, essa sobrecarga pode provocar danos celulares. Li et al. relata diminuição na função oxidativa e aumento da produção de superóxido em animais obesos submetidos a dieta rica em gordura por 12 semanas⁽³⁴⁾. Entretanto, o mesmo autor rotula o exercício como atenuante para esses efeitos, protegendo os tecidos do estresse oxidativo. No presente estudo, os animais exercitados obtiveram índices de MnSod abaixo do grupo CS, indo de encontro com o relatado pelo autor.

Considerando processos que envolvem o controle de qualidade das mitocôndrias, referimo-nos à dinâmica mitocondrial, que engloba Fusão, Fissão e Mitofagia⁽¹¹⁾. A Fusão tem como principal objetivo interligar os conteúdos mitocôndrias para manter uma rede interligada altamente ativa, e a Fissão tem por objetivo a separação das mitocôndrias, para eliminar conteúdos ineficazes e manter somente as organelas com alto potencial de membrana, onde as danificadas são encaminhadas para a mitofagia⁽³⁵⁾. Os resultados envolvendo genes da Fusão e da Fissão mostram um desequilíbrio desses mecanismos. Enquanto o processo de Fusão foi estimulado pelo T.R, a Fissão ganhou força com a obesidade induzida pela D.H. De fato a demanda exigida pelo T.R induz a Fusão mitocondrial, com intuito de produção energética em alta escala, porém o mesmo parece ser capaz de impedir a produção exacerbada de organelas disfuncionais, mantendo o processo de Fissão balanceado. Ao mesmo tempo que o consumo da D.H provocou uma adição a Fissão mitocondrial, uma vez que um dos principais motivos que estimulam esse processo é a produção energética ineficaz com excesso de EROs⁽³⁶⁾. Sendo assim, entendemos que os animais OS não realizavam Fusões eficientes, perdendo a transmissão do mtDNA, e

ainda tinham um acréscimo nos processos de Fissão devido o aumento das organelas inoperantes.

O PGC1- α possui efeito sobre os processos de Fusão e Fissão⁽³⁷⁾, um decréscimo na sua expressão prejudica a atividade dos demais mecanismos estimulados por este. Como também sabemos que os animais OS apresentaram baixos índices de genes relacionados à Biogênese mitocondrial, acreditamos que a sobrecarga de função, estresse oxidativo e Fissão exagerada possa estar relacionada com a baixa quantidade de mitocôndrias, além da baixa eficiência das organelas operantes. Outros estudos que avaliaram o efeito da obesidade na Fusão e Fissão também encontraram diminuição nos marcadores de Fusão e aumento na Fissão, com efeitos diretos na disfunção mitocondrial^(34,38).

Um fator limitante do presente estudo a se destacar é que só foi investigada a expressão gênica de marcadores mitocondriais. Embora os resultados de expressão de genes mitocondriais seja indicador importante para se avaliar a mitocôndria, nem sempre o que se verifica para expressão de genes é verificado para expressão da proteína decodificada por eles⁽³⁹⁾. Outro ponto importante a investigar futuramente será a análise da função mitocondrial, avaliada por meio do consumo de oxigênio.

Dessa forma, com os resultados aqui apresentados pode-se afirmar que a ingestão de dieta hipercalórica associada ao sedentarismo induz obesidade e prejudica a expressão de genes que atuam na Biogênese, Função e Dinâmica mitocondrial. Contudo, a prática regular de exercícios físicos resistido permite que esses genes se mantenham inalterados ou melhorem sua expressão, resultando em ganho no desempenho da organela, mesmo sob ingestão de dieta hipercalórica.

REFERÊNCIAS

1. Fujioka K. Current and emerging medications for overweight or obesity in people with comorbidities. *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2015 Nov [cited 2018 Jun 25];17(11):1021–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/dom.12502>
2. Corcelles R, Daigle CR, Schauer PR. Metabolic effects of bariatric surgery [Internet]. Vol. 174, *European Journal of Endocrinology*. 2016 [cited 2018 Jun 25]. p. R19–28. Available from: <http://www.eje-online.org/content/174/1/R19.short>
3. Ward ZJ, Long MW, Resch SC, Giles CM, Cradock AL, Gortmaker SL. Simulation of Growth Trajectories of Childhood Obesity into Adulthood. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 Nov 30 [cited 2018 Jun 25];377(22):2145–53. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1703860>
4. Ludwig DS. Epidemic Childhood Obesity: Not Yet the End of the Beginning. *Pediatrics* [Internet]. 2018 Feb 26 [cited 2018 Jun 30];e20174078. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29483198>
5. Coffey VG. Interaction of contractile activity and training history on mRNA abundance in skeletal muscle from trained athletes. *AJP Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 May [cited 2018 Jun 25];290(5):E849–55. Available from: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00299.2005>
6. Hood DA. Mechanisms of exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle 1. *Engineering* [Internet]. 2009 Jun [cited 2018 Jun 30];472(3):465–72. Available from: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/H09-045>

7. Popov D V., Lysenko EA, Butkov AD, Vepkhvadze TF, Perfilov D V., Vinogradova OL. AMPK does not play a requisite role in regulation of PPARGC1A gene expression via the alternative promoter in endurance-trained human skeletal muscle. *Exp Physiol*. 2017;102(3):366–75.
8. Joseph AM, Joanisse DR, Baillot RG, Hood DA. Mitochondrial dysregulation in the pathogenesis of diabetes: Potential for mitochondrial biogenesis-mediated interventions [Internet]. Vol. 2012, *Experimental Diabetes Research*. 2012 [cited 2018 Jun 25]. Available from: <http://downloads.hindawi.com/journals/edr/2012/642038.pdf>
9. Gianni P, Jan KJ, Douglas MJ, Stuart PM, Tarnopolsky MA. Oxidative stress and the mitochondrial theory of aging in human skeletal muscle. *ExpGerontol* [Internet]. 2004 [cited 2018 Jun 25];39(0531-5565):1391–400. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556504001871>
10. Fillmore N, Mori J, Lopaschuk GD. Mitochondrial fatty acid oxidation alterations in heart failure, ischaemic heart disease and diabetic cardiomyopathy [Internet]. Vol. 171, *British Journal of Pharmacology*. 2014 [cited 2018 Jun 25]. p. 2080–90. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bph.12475>
11. Baker MJ, Palmer CS, Stojanovski D. Mitochondrial protein quality control in health and disease [Internet]. Vol. 171, *British Journal of Pharmacology*. 2014 [cited 2018 Jun 25]. p. 1870–89. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bph.12430>
12. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE.

- Mitochondria and reactive oxygen species [Internet]. Vol. 47, Free Radical Biology and Medicine. Pergamon; 2009 [cited 2018 Jun 25]. p. 333–43. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089158490900269X>
13. Viña J, Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Froio T, Sanchis-Gomar F, Martínez-Bello VE, et al. Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2009 Nov 30 [cited 2018 Jun 25];61(14):1369–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X09002543>
 14. Egan B, Carson BP, Garcia-Roves PM, Chibalin A V., Sarsfield FM, Barron N, et al. Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *J Physiol* [Internet]. 2010 May 15 [cited 2018 Jun 25];588(10):1779–90. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2010.188011>
 15. Silveira LR, Pilegaard H, Kusuhara K, Curi R, Hellsten Y. The contraction induced increase in gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ coactivator 1 α (PGC-1 α), mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3) and hexokinase II (HKII) in primary rat skeletal muscle cells is dependent on rea. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* [Internet]. 2006 [cited 2018 Jun 25];1763(9):969–76. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488906001467>
 16. Gleyzer N, ... KV-M and cellular, 2005 U. Control of mitochondrial

- transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. *Am Soc Microbiol* [Internet]. [cited 2018 Jun 25]; Available from: <http://mcb.asm.org/content/25/4/1354.short>
17. Scarpulla RC, Vega RB, Kelly DP. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis [Internet]. Vol. 23, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Current Trends; 2012 [cited 2018 Jun 25]. p. 459–66. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043276012001075>
 18. Morozov YI, Agaronyan K, Cheung ACM, Anikin M, Cramer P, Temiakov D. A novel intermediate in transcription initiation by human mitochondrial RNA polymerase. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(6):3884–93.
 19. Zampieri S, Mammucari C, Romanello V, Barberi L, Pietrangelo L, Fusella A, et al. Physical exercise in aging human skeletal muscle increases mitochondrial calcium uniporter expression levels and affects mitochondria dynamics. *Physiol Rep* [Internet]. 2016 Dec [cited 2018 Jun 25];4(24):e13005. Available from: <http://doi.wiley.com/10.14814/phy2.13005>
 20. Miller MW, Knaub LA, Olivera-Fragoso LF, Keller AC, Balasubramaniam V, Watson PA, et al. Nitric oxide regulates vascular adaptive mitochondrial dynamics. *AJP Hear Circ Physiol* [Internet]. 2013 Jun 15 [cited 2018 Jun 25];304(12):H1624–33. Available from: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.00987.2012>
 21. Porter C, Reidy PT, Bhattarai N, Sidossis LS, Rasmussen BB. Resistance

- Exercise Training Alters Mitochondrial Function in Human Skeletal Muscle. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2015 Sep [cited 2018 Jun 25];47(9):1922–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25539479>
22. Heilbronn LK, Seng KG, Turner N, Campbell L V., Chisholm DJ. Markers of mitochondrial biogenesis and metabolism are lower in overweight and obese insulin-resistant subjects. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2007 Apr 1 [cited 2018 Jun 25];92(4):1467–73. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2006-2210>
23. Leite RD, Durigan R de CM, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, Souza M das G, 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. *Metabolism* [Internet]. 2013 Oct 1 [cited 2018 Jun 25];62(10):1477–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049513001509>
24. Nery CS, Pinheiro IL, Muniz GS, de Vasconcelos DAA, de França SP, do Nascimento E. Medidas Murinométricas e Eficiência Alimentar em Ratos Provenientes de Ninhadas Reduzidas na Lactação e Submetidos ou Não ao Exercício de Natação. *Rev Bras Med do Esporte* [Internet]. 2011 [cited 2018 Jun 25];17:49–55. Available from: <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/11813>
25. Popkin BM, Nielsen SJ. The sweetening of the world's diet. *Obes Res* [Internet]. 2003 Nov [cited 2018 Jun 30];11(11):1325–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2003.179>
26. Prazeres F, ... D de PP-RB, 2004 undefined. Exercício físico, crescimento

- e desenvolvimento: estudo em ratos jovens desnutridos pela dieta básica regional (DBR) e recuperados nutricionalmente. *periodicos.usp.br* [Internet]. [cited 2018 Jun 30]; Available from: <http://www.periodicos.usp.br/rbefe/article/view/16547>
27. Shultz SP, Dahiya R, Leong GM, Rowlands DS, Hills AP, Byrne NM. Muscular strength, aerobic capacity, and adipocytokines in obese youth after resistance training: A pilot study. *Australas Med J* [Internet]. 2015 [cited 2018 Jun 30];8(4):113–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26045721>
 28. Chinopoulos C, Szabadkai G. What makes you can also break you: mitochondrial permeability transition pore formation by the c subunit of the F1F0 ATP-synthase? *Front Oncol* [Internet]. 2013 [cited 2018 Jun 30];3. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2013.00025/abstract>
 29. Vega RB, Horton JL, Kelly DP. Maintaining ancient organelles: Mitochondrial biogenesis and maturation. *Circ Res*. 2015;116(11):1820–34.
 30. Lundby C, Jacobs RA. Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. *Exp Physiol* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2018 Jun 30];101(1):17–22. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/EP085319>
 31. Greene NP, Lee DE, Brown JL, Rosa ME, Brown LA, Perry RA, et al. Mitochondrial quality control, promoted by PGC-1 α , is dysregulated by Western diet-induced obesity and partially restored by moderate physical activity in mice. *Physiol Rep* [Internet]. 2015 Jul [cited 2018 Jun

- 30];3(7):e12470. Available from: <http://doi.wiley.com/10.14814/phy2.12470>
32. Konopka AR, Asante A, Lanza IR, Robinson MM, Johnson ML, Man CD, et al. Defects in mitochondrial efficiency and H₂O₂ emissions in obese women are restored to a lean phenotype with aerobic exercise training. *Diabetes* [Internet]. 2015 Jun 20 [cited 2018 Jun 30];64(6):2104–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25605809>
33. Selivanov VA, Votyakova T V., Pivtoraiko VN, Zeak J, Sukhomlin T, Trucco M, et al. Reactive Oxygen Species Production by Forward and Reverse Electron Fluxes in the Mitochondrial Respiratory Chain. Beard DA, editor. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2011 Mar 31 [cited 2018 Jun 30];7(3):e1001115. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pcbi.1001115>
34. Li G, Liu JY, Zhang HX, Li Q, Zhang SW. Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity. *Physiol Res* [Internet]. 2015 [cited 2018 Jun 30];64(3):355–67. Available from: www.biomed.cas.cz/physiolres
35. Ni H-M, Williams JA, Ding W-X. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control. *Redox Biol* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2018 Jun 30];4:6–13. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231714001189>
36. Romanello V, Sandri M. Mitochondrial biogenesis and fragmentation as regulators of protein degradation in striated muscles. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2018 Jun 30];55:64–72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022282812002908>

37. Singh SP, Schragenheim J, Cao J, Falck JR, Abraham NG, Bellner L. PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: Role of epoxyeicosatrienoic acid. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2018 Jun 30];125:8–18. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S109888231630051X>
38. Dahlmans D, Houzelle A, Schrauwen P, Hoeks J. Mitochondrial dynamics, quality control and miRNA regulation in skeletal muscle: implications for obesity and related metabolic disease. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2018 Jun 30];130(11):843–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27129097>
39. Seraphim PM, Nunes MT, Giannocco G, Machado UF. Age related obesity-induced shortening of GLUT4 mRNA poly(A) tail length in rat gastrocnemius skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2007 Sep 30 [cited 2018 Jun 30];276(1–2):80–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720707002596>

CONCLUSÃO

Em suma, a ingestão de dieta hipercalórica imposta associada ao sedentarismo induziu obesidade e prejudicou a expressão de genes que atuam na Biogênese, Função e Dinâmica mitocondrial, além de induzir comorbidades, como dislipidemia, esteatose hepática e alterações cardiovasculares. Por outro lado, o treinamento resistido de 12 semanas foi eficiente em minimizar o desenvolvimento de todas estas alterações e na manutenção e/ou melhoria de expressão de genes mitocondriais importantes para o metabolismo muscular mesmo em animais que ingeriram dieta hipercalórica.

Conclui-se, portanto, que se houver ingestão de dieta hipercalórica haverá prejuízos metabólicos e teciduais no coração, no fígado, no tecido adiposo e no músculo esquelético, os quais, com o treinamento resistido, poderão ser amenizados ou evitados.

REFERÊNCIAS

1. Davis RAH, Plaisance EP, Allison DB. Complementary Hypotheses on Contributors to the Obesity Epidemic. *Obesity* [Internet]. 2018 Jan [cited 2018 Jul 2];26(1):17–21. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/oby.22071>
2. Farias E dos S, Gonçalves EM, Morcillo AM, Guerra-Júnior G, Amancio OMS, Farias E dos S, et al. Effects of programmed physical activity on body composition in post-pubertal schoolchildren. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 2015 Mar [cited 2018 Jul 2];91(2):122–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021755714001417>
3. Brouns F. WHO Guideline: “Sugars intake for adults and children” raises some question marks. *Agro Food Ind Hi Tech* [Internet]. 2015 [cited 2018 Jul 2];26(4):34–6. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/149782/9789241549028_eng.pdf;jsessionid=EB0FD6660F3B429F3BC6F5A2D3844282?sequence=1
4. Bhadoria A, Sahoo K, Sahoo B, Choudhury A, Sufi N, Kumar R. Childhood obesity: Causes and consequences. *J Fam Med Prim Care* [Internet]. 2015 [cited 2018 Jul 2];4(2):187. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25949965>
5. Putti R, Sica R, Migliaccio V, Lionetti L. Diet impact on Mitochondrial Bioenergetics and Dynamics. *Front Physiol* [Internet]. 2015 Sep [cited 2018 Jul 2];6(MAR):3135–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25972572>

6. Xiao YX, Lanza IR, Swain JM, Sarr MG, Nair KS, Jensen MD. Adipocyte mitochondrial function is reduced in human obesity independent of fat cell size. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2014 Feb [cited 2018 Jul 2];99(2):E209-16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24276464>
7. Ma W, Yuan L, Yu H, Xi Y, Xiao R. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the brain of diet-induced obese rats but not in diet-resistant rats. *Life Sci* [Internet]. 2014 Aug 21 [cited 2018 Jul 2];110(2):53–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25058918>
8. Lahera V, de las Heras N, López-Farré A, Manucha W, Ferder L. Role of Mitochondrial Dysfunction in Hypertension and Obesity [Internet]. Vol. 19, *Current Hypertension Reports*. 2017 [cited 2018 Jul 2]. p. 11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28233236>
9. Neves DR, Martins EA, Souza MVC, Silva Junior AJ. Efeitos do treinamento de força sobre o índice de percentual de gordura corporal em adultos. *Rev Bras Obesidade, Nutr e emagrecimento* [Internet]. 2015 Aug 31 [cited 2018 Jul 2];9(52):135–41. Available from: <http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/371>
10. Menshikova E V, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2006 Jun [cited 2018 Jul 2];61(6):534–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16799133>
11. Brown MB, Neves E, Long G, Graber J, Gladish B, Wiseman A, et al. High-

- intensity interval training, but not continuous training, reverses right ventricular hypertrophy and dysfunction in a rat model of pulmonary hypertension. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2018 Jul 2];312(2):R197–210. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27784688>
12. 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* [Internet]. 2014 Apr 21 [cited 2018 Jul 2];20(15):4382–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24764677>
 13. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsuse H, Nago T, et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol* [Internet]. 2017 Jan [cited 2018 Jul 2];66(1):142–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27639843>
 14. Robinson MM, Dasari S, Konopka AR, Johnson ML, Manjunatha S, Esponda RR, et al. Enhanced Protein Translation Underlies Improved Metabolic and Physical Adaptations to Different Exercise Training Modes in Young and Old Humans. *Cell Metab* [Internet]. 2017 Mar 7 [cited 2018 Jul 2];25(3):581–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28273480>
 15. Kim HJ, Lee HJ, So B, Son JS, Yoon D, Song W. Effect of aerobic training and resistance training on circulating irisin level and their association with change of body composition in overweight/obese adults: A pilot study.

Physiol Res [Internet]. 2016 Jun 20 [cited 2018 Jul 2];65(2):271–9.
Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26447516>

16. Kitaoka Y, Nakazato K, Ogasawara R. Combined effects of resistance training and calorie restriction on mitochondrial fusion and fission proteins in rat skeletal muscle. J Appl Physiol [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2018 Jul 2];121(3):806–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27539498>

ANEXO 1

Certificado da Comissão de ética no uso de animais (CEUA)




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

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeito da Cessação de Treinamento Resistido sobre a Expressão de Proteínas do Metabolismo Mitocondrial em Tecido Adiposo e Músculo Esquelético de Ratos Obesos**", protocolo nº **01/2017** sob responsabilidade de **Patrícia Monteiro Seraphim** que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica(ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUAS da Faculdade de Ciência e Tecnologia da UNESP, campus de Presidente Prudente, em reunião de **30/06/2017**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Agosto de 2017 a Janeiro de 2019
Espécie/linhagem/raça	Rato Heterogênico/ Wistar
Nº de Animais	48
Peso/Idade	200g/ 45 dias
Sexo	macho
Origem	Biotério Central da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. Raul Antonio Fragoso Neto
Presidente 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