

**Dissertação de Mestrado**

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NA  
PRÓSTATA DE CAMUNDONGOS SELVAGEM E PPAR- $\alpha$  -/-: ANÁLISES  
HISTOPATOLÓGICAS E MOLECULARES**

Danilo Bianchini Baptista

Presidente Prudente, 2019



**Dissertação de Mestrado**

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NA  
PRÓSTATA DE CAMUNDONGOS SELVAGEM E PPAR- $\alpha$  -/-: ANÁLISES  
HISTOPATOLÓGICAS E MOLECULARES**

Danilo Bianchini Baptista

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Ciências e  
Tecnologia – FCT/UNESP, como  
parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em ciência da  
Motricidade Humana.

**Orientadora:** Profa. Dra.  
Giovana Rampazzo Teixeira

Presidente Prudente, 2019

B222e      Baptista, Danilo Bianchini  
                 EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO E DIETA  
                 HIPERLIPÍDICA NA PRÓSTATA DE CAMUNDONGOS  
                 SELVAGEM E PPAR-  $\alpha$ : ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS E  
                 MOLECULARES / Danilo Bianchini Baptista. -- , 2019  
                 64 p. : il., tabs. + 1 CD-ROM

                 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
                 Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara,  
                 Orientadora: Giovana Rampazzo Teixeira

                 1. Exercício físico aeróbio. 2. Dieta hiperlipídica. 3. PPAR. 4.  
                 Próstata. 5. Inflamação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

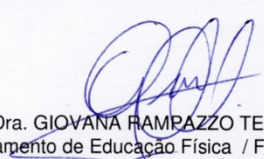
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

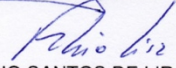
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NA PRÓSTATA DE CAMUNDONGOS SELVAGEM E PPAR-  $\alpha$  : ANÁLISE HISTOPATOLÓGICAS E MOLECULARES

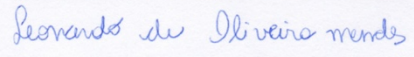
**AUTOR: DANILO BIANCHINI BAPTISTA**

**ORIENTADORA: GIOVANA RAMPAZZO TEIXEIRA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE , área: Biotinâmica da Motricidade Humana pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dra. GIOVANA RAMPAZZO TEIXEIRA  
Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP

  
Prof. Dr. FABIO SANTOS DE LIRA  
Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - SP

  
Prof. Dr. LEONARDO DE OLIVEIRA MENDES  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal / UNOESTE

Presidente Prudente, 17 de maio de 2019

## RESUMO

*Introdução:* A tendência atual de um estilo de vida cada mais sedentário, concomitante com o alto consumo de gordura, provocam inflamação sendo considerada precursora do desenvolvimento do quadro de síndrome metabólica, obesidade, doenças cardíacas, alterações teciduais e desenvolvimento de diversos cânceres, como o câncer de próstata.

*Objetivo:* é verificar a participação do fator de transcrição gênica PPAR- $\alpha$ , como possível regulador nos efeitos protetores do treinamento físico aeróbico através de alterações prostática de camundongos submetidos a dieta padrão e dieta hiperlipídica, analisando as alterações morfológicas e expressão proteica na próstata.

*Métodos:* Foram utilizados deficientes para PPAR $\alpha$  (KO) e camundongos controles da linhagem C57BL/6J selvagens (10 semanas de idade). Foram alimentados com dieta padrão, e dieta hiperlipídica (HFD) foi composta por 26% de carboidratos, 59% de lipídios e 15% de proteína. O treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira ergométrica a 60% da velocidade máxima, 5 dias por semana, 10m/min durante 60 minutos, por 12 semanas de tratamento.

*Resultados:* A HFD induz alterações teciduais prostáticas, aumento de mastócitos, aumento proteico relacionado com receptores de andrógenos (AR), receptores de glicocorticoides (GR), receptor de morte celular (Fas), linfoma de células B -2 (BCL-2) e BCL-2 associado a proteína X (BAX) interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B). No entanto, o exercício físico aeróbico modulou a próstata reduzindo a ativação de receptores esteroides, e reduzindo a inflamação, independente da ação de PPAR $\alpha$ .

*Conclusão:* Nossos achados sugerem que o exercício físico aeróbico suprime as lesões prostáticas induzidas por HFD, reduzindo a inflamação prostática.

*Palavras-chave:* Inflamação, próstata, exercício físico, PPAR $\alpha$

## ABSTRACT

*Introduction:* The current trend of a more sedentary life style, concomitant with the high consumption of fat, provokes inflammation and is considered a precursor of the development of metabolic syndrome, obesity, heart disease, tissue changes and the development of several cancers, such as prostate cancer.

*Objective:* It is to verify the participation of the gene transcription factor PPAR- $\alpha$ , as a possible regulator in the protective effects of aerobic physical training through prostatic changes of mice submitted to standard diet and hyperlipidic diet, analyzing the morphological changes and protein expression in the prostate.

*Methods:* Deficits were used for PPAR $\alpha$  (KO) and wild-type C57BL/6J control mice (10 weeks of age). They were fed standard diet, and hyperlipid diet (HFD) was composed of 26% carbohydrates, 59% lipids and 15% protein. The aerobic physical training was performed on treadmill at 60% of the maximum speed, 5 days a week, 10m / min during 60 minutes, for 12 weeks of treatment.

*Results:* HFD induces prostatic tissue changes, mast cell enlargement, androgen receptor (AR), glucocorticoid receptor (GR) receptors, cell death receptor (Fas), B-cell lymphoma (BCL-2) and BCL-2 associated with protein X (BAX) interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B). However, aerobic physical exercise modulated the prostate gland by reducing the activation of steroid receptors, and reducing inflammation, regardless of the action of PPAR $\alpha$ .

*Conclusion:* Our findings suggest that aerobic physical exercise suppresses HFD-induced prostatic lesions, reducing prostatic inflammation.

*Keywords:* Inflammation, prostate, exercise, PPAR $\alpha$ .

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO

Figura 1 – Design dos grupos e delineamento experimental .....	59
Figura 2 – Análise morfológica e quantitativas dos grupos experimentais.....	60
Figura 3 – Expressão imunorreativa e quantitativa de AR, GR, Faz, BCL-2 e BAX.....	61
Figura 4– Expressão imunorreativa e quantitativa de IL-6, TNF- $\alpha$ e NF- $\kappa$ B.....	62

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO

<b>Tabela 1</b> – Característica da amostra, peso corporal, peso dos tecidos, níveis séricos de triglicerídeos, colesterol e ácido graxos livres de camundongos WT e PPAR $\alpha$ (KO) com consumo de dieta padrão e dieta hiperlipídica.....	57
--	----

## LISTA DE ABREVIATURA

AR	Receptor de andrógeno
BAX	BCL-2 associado a proteína X
BCL-2	B-cell lymphoma 2
BSA	Albumina de soro bovino
DAB	Diaminobenzidina
Fas	Receptor de morte celular
GR	Receptor de glicocorticóide
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HFD	Dieta hiperlipídica
IGF	Fator de crescimento semelhante a insulina
IGFBP	Proteína de ligação ao fator de crescimento semelhante de insulina
IL-6	Interleucina 6
KO	do inglês “knockout” - deficiente
KO-HF	Animais deficientes em PPAR- $\alpha$ alimentados com dieta hiperlipídica
KO-HFT	Animais deficientes em PPAR- $\alpha$ alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento físico aeróbio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
PAS	do inglês periodic acid schiff
PGC-1 $\alpha$	Coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
PPAR $\gamma$	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
PPAR $\alpha$	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa
SD -	Animais selvagens alimentados com dieta padrão
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa

WT do inglês Wild Type - selvagem

WT-HF. Animais selvagens alimentados com dieta hiperlipídica

WT-HFT Animais selvagens alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento físico aeróbio

## SUMÁRIO

<i>1. INTRODUÇÃO</i> .....	10
1.1 ESTRUTURA GERAL DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO .....	10
1.2 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA .....	10
1.2.1 Modulações prostáticas promovida pelo exercício físico .....	11
1.2.2 Dieta Hiperlipídica: padrões inflamatórios .....	13
1.2.3 PPAR e próstata e possíveis efeitos do exercício físico .....	16
1.3 OBJETIVOS .....	22
1.3.1 Objetivo Geral .....	22
1.3.2 Objetivo Específico .....	22
1.4 HIPÓTESE.....	22
1.5 JUSTIFICATIVAS .....	23
1.6 REFERÊNCIAS.....	25
<i>2. RESULTADOS</i> .....	37
2.1 ARTIGO .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 ESTRUTURA GERAL DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO

A estrutura da presente dissertação foi elaborada conforme modelo alternativo, apresentada no formato de artigo científico, para o programa de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Sendo assim a dissertação foi elaborada em três capítulos. No primeiro capítulo foi apresentada a contextualização do problema de pesquisa, objetivos (geral e específicos) e a justificativa do estudo. Na sequência o segundo capítulo está apresentado os resultados da pesquisa que foi descrito em um artigo científico intitulado “Ausência de PPAR- $\alpha$  na próstata: modificações morfológicas e moleculares associadas ao exercício físico aeróbico” será encaminhada para avaliação na revista *Metabolism Clinical and Experimental*, Qualis/CAPES A1, JCR 86 e Fator de Impacto 5,9.

### 1.2 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

O câncer de próstata é um dos cânceres mais comumente diagnosticados (com exceção do câncer de pele) em homens com mais de 50 anos. Estima-se que haverá quase 1,3 milhão de novos casos de câncer de próstata e 359.000 mortes no mundo em 2018, sendo o segundo mais frequente e a quinta principal causa de morte por câncer em homens (BRAY et al., 2018) As taxas de incidência no Brasil estão aumentando, podendo ser parcialmente justificadas pela evolução dos métodos diagnósticos, pela melhora na qualidade dos sistemas de informação do país e pelo aumento da expectativa de vida. Estima-se que 68.220 novos casos de câncer de próstata serão diagnosticados em 2018 com uma mortalidade de 14.484 (INCA, 2018) no Brasil. O câncer de próstata está associado a fatores de risco, incluindo inatividade física e estilos de vida sedentários

(TSILIDIS et al., 2016), o consumo excessivo de refeições altamente calóricas e pouco nutritivas (PEISCH et al., 2017) nas taxas de obesidade (HSING; SAKODA; JR, 2007), um aumento na prevalência do tabagismo (RIEKEN et al., 2015).

A inatividade física tem sido apontada frequentemente como um dos principais fatores responsáveis pelo desencadeamento de doenças crônico-degenerativas, obesidade e, conseqüentemente, câncer (SEGUE et al., 2018). Nesse sentido, a realização periódica de exercícios físicos parece atuar como agente não-farmacológico no controle dessas doenças (BAPTISTA et al., 2018). Já é sabido na literatura que, exercícios físicos predominantemente aeróbicos diminua os estoques de gordura corporal (BAE et al., 2017), ao passo que o treinamento de força induz o aumento da massa magra (JAKOVLJEVIC et al., 2018).

Atualmente o exercício físico é incentivado e realizado como estratégia para redução de sobrepeso, pois aumenta o gasto energético, reduz o perfil lipídico, o risco de doenças cardiovasculares, previne o desenvolvimento e a progressão da arteriosclerose, traz benefícios para a dislipidemia e é o melhor tratamento para diabetes mellitus tipo 2 (ALVAREZ et al., 2018). Seu mecanismo de ação possibilita a manutenção do peso corporal, o controle da pressão arterial, à resistência insulínica, a estabilização endotelial e a saúde vascular (STUBBS et al., 2019). Existem relatos que o exercício físico muda a progressão do tumor (NOGUCHI; LISS; PARSONS, 2015) e aprimora o bem-estar psíquico e a qualidade de vida dos pacientes com câncer (HASENOEHRL et al., 2015). Assim, estudos têm atribuído ao exercício físico à função terapêutica auxiliar no tratamento do câncer de próstata. Portanto, investigação sobre os mecanismos de ação do exercício físico na próstata são necessárias.

### *1.2.1 Modulações prostáticas promovida pelo exercício físico*

Mecanismos de ação prostática do exercício físico ainda é obscuro para ciência. Além disso sabe-se que o aumento da lipogênese prostática pode ser indutor de câncer (LIU et al., 2015). A próstata está inserida no sistema genital masculino e secreta diversa nutriente que compõem o líquido seminal, essencial para a nutrição e motilidade dos espermatozóides (TAYLOR; TOIVANEN; RISBRIDGER, 2010). Nos roedores, estruturalmente, a próstata é constituída por pares de lobos (ventral, lateral e dorsal) de glândulas túbulo acinosas e estroma que circundam a uretra pélvica. A próstata anterior ou de glândula de coagulação localiza-se na face côncava das vesículas seminais (UNTERGASSER; MADERSBACHER; BERGER, 2005). Os ácinos prostáticos são revestidos por epitélio secretor constituído por dois compartimentos morfológicamente distintos: o basal e o luminal ou secretor. Nesses compartimentos localizam três tipos células: a basal, a luminal e/ou secretora e a neuroendócrina (SAKUMA et al., 2016). Essas células podem ser diferenciadas pela expressão e/ou co-expressão diferencial de citoqueratinas (CK) e antígenos de superfície (CD - cluster de diferenciação) (BERRY; MAITLAND; COLLINS, 2008). O estroma prostático é formado por complexo arranjo de células, que incluem células musculares lisas, fibroblastos e miofibroblastos e pela matriz extracelular. Ressalta-se que os elementos estromais fornecem sinais biológicos e exercem influências mecânicas sobre as células epiteliais (CUNHA; MATRISIAN, 2002).

Os processos biológicos de morfogênese, manutenção da atividade funcional, proliferação e diferenciação das células prostáticas são regulados por andrógenos (LAMB; MASSIE; NEAL, 2014). A testosterona e a diidrotestosterona (DHT) são os principais andrógenos que estimulam a diferenciação prostática (WANG; HU; WEI, 2016). Além dos andrógenos, outros hormônios como os estrógenos atuam

sinergicamente à testosterona, influenciando tanto as funções normais da próstata quanto às alterações patológicas (ZHANG et al., 2011).

A resposta proliferativa do tecido à lesão e inflamação é necessária para a sobrevivência do tecido, contudo existe associação entre a inflamação crônica e câncer levando a concluir que essa resposta proliferativa advinda de uma inflamação pode impulsionar o crescimento epitelial em neoplasia (MEDZHITOV, 2008). Tem sido proposto que as transformações neoplásicas resultam da proliferação epitelial em ambiente rico em células inflamatórias, fatores de crescimento, estroma ativado e liberação de agentes promotores de danificação no DNA (JERDE; BUSHMAN, 2009; MEDZHITOV, 2008). Desta forma, mediadores inflamatórios tem papel principal no processo inflamatório e podem contribuir para o desenvolvimento e progressão do tumor. Porém seu efeito sobre a progressão do tumor ainda é considerado colateral não específico.

Com base em estudos prévios em nosso laboratório sugerimos que os treinamentos de força em ratos podem modificar o perfil lipídico e hormonal da próstata de ratos (TEIXEIRA et al., 2019). Desta forma faz-se necessário o conhecimento de diferentes possibilidades de intervenção, por meio do exercício físico, seja por meio de treinamento resistido, de exercícios aeróbios, e de seus efeitos sobre diferentes parâmetros, como o perfil metabólico, a composição corporal, em pessoas com fatores de risco para o desenvolvimento de Síndrome Metabólica (SM).

### *1.2.2 Dieta Hiperlipídica: padrões inflamatórios*

Caracteriza-se por dieta hiperlipídica (DH) o consumo excessivo de lipídios (40% - 50% da ingestão calórica total) como ácidos graxos saturados, gorduras saturadas e

trans-insaturadas (GREENWOOD & WINOCUR, 2005; SCHRAUWEN & WESTERTERP, 2000). Já é bem descrito que este consumo alimentar potencializa diversas doenças como obesidade (LI, et al. 2002), o diabetes-mellitus tipo 2 (GREENWOOD & WINOCUR, 2005) e doenças cardiovasculares (WHITEHEAD 2011). A obesidade associada DH é um precursor do diabetes tipo 2 promovida pela resistência insulínica (KOVACS; STUMVOLL, 2005). Estas condições resultam em mudanças no metabolismo de glicose e lipídios causando um elevado nível sérico de insulina em jejum (VIKRAM; JENA; RAMARAO, 2010). Embora não existem estudos conclusivos entre o alto teor de gordura ingerida e o risco de câncer de próstata o aumento de consumo de gordura animal parece ser indutor de lesões prostáticas (BIANCO et al., 2006). Estudos relatam que altos níveis de gordura saturada na dieta aumenta o crescimento de câncer prostático em célula in vitro, enquanto que dieta com baixo teor de gordura atrasa o crescimento de células cancerígenas prostáticas (PANDALAI et al., [s.d.]; WANG et al., 1995).

Inúmeras drogas têm sido desenvolvidas para o tratamento da resistência insulínica entre elas a metformina e o agonista de PPAR- $\gamma$ . A insulina e o IGF-1 são funcionalmente homólogos podendo ativar o mesmo receptor. Essa similaridade funcional tem levado a várias investigações relacionando a atividade de IGF em obesos, diabéticos e pacientes com doenças prostáticas (COHEN; PEEHL; ROSENFELD, 1994; NAM et al., 1997). Alguns dos principais mecanismos envolvidos no crescimento da próstata são potenciais alvos terapêuticos que incluem alterações no estado hormonal, alterações no eixo insulina/IGF/IGFBP, inflamação e alterações no metabolismo resultante da estimulação anormal persistente.

O receptor de IGF-1 é expresso predominantemente no epitélio prostático, enquanto que no estroma está expresso o ligante de IGF-1 atuando de forma parácrina no

receptor (COHEN; PEEHL; ROSENFELD, 1994; VIKRAM; JENA; RAMARAO, 2010). Células prostáticas epiteliais e do estroma *in vitro* são sensíveis a IGF-1 e IGFBP relacionando esses fatores a progressão do câncer prostático (COHEN et al., 1993; TENNANT et al., 1996). O desenvolvimento prostático ocorre pobremente em camundongos deficientes de receptores de IGF-1 (HAYWARD; CUNHA, 2000). Tem sido documentado que o aumento de insulina aumenta a proliferação celular na próstata de ratos (VIKRAM; JENA; RAMARAO, 2010). Assim esse número crescente de evidências suporta a ideia que as mudanças no eixo IGF/IGFBP resultantes da obesidade ou diabetes poderiam desempenhar importante papel na regulação do crescimento prostático.

A obesidade e o diabetes são doenças sistêmicas complexas. Ambas alteram o metabolismo de hormônios esteroides e podem ser consideradas “pro-inflamatórias” condições pelas quais aumentam a liberação de citocinas que possivelmente podem contribuir para o crescimento prostático (JERDE & BUSHMAN, 2009). Dentre os principais marcadores pró-inflamatórios estão a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (CESARI et al., 2004). A resposta proliferativa do tecido à lesão e inflamação é necessária para a sobrevivência do tecido, contudo existe associação entre a inflamação crônica e câncer levando a concluir que essa resposta proliferativa advinda de uma inflamação pode impulsionar o crescimento epitelial em neoplasia (MEDZHITOV 2009). Tem sido proposto que as transformações neoplásicas resultam da proliferação epitelial em ambiente rico em células inflamatórias, fatores de crescimento, estroma ativado e liberação de agentes promotores de danificação no DNA (MEDZHITOV 2009; JERDE AND BUSHMAN, 2009). Desta forma, mediadores inflamatórios tem papel principal no processo inflamatório e podem contribuir para o desenvolvimento e

progressão do tumor. Porém seu efeito sobre a progressão do tumor ainda é considerado colateral não específico.

O ciclo celular prostático pode ser modulado pela secreção de TNF- $\alpha$ , inibindo a apoptose através da ativação de NF- $\kappa$ B e estimulando proteínas anti-apoptóticas como BCL-2 e BCL-XL (TAMATANI, et. al. 1999). Além disso, a inflamação crônica contribui para o aumento de mediadores como COX-2 e iNOS, que estimulam o aumento da próstata (SHANKAR et. al., 2015). A dieta hiperlipídica pode modular a próstata via ativação inflamatória e alteração na fosforilação de IKK  $\alpha/\beta$  e I $\kappa$ B $\alpha$ , resultando em maior translocação de NF- $\kappa$ B para o núcleo da célula (SHANKAR et. al., 2015). Ainda o aumento da ação de NF- $\kappa$ B nas células prostáticas estimula as proteínas BCL-2 e BCL-XL desregulando o ciclo celular (SHANKAR et. al., 2015).

### 1.2.3 PPAR e próstata e possíveis efeitos do exercício físico

Receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa (do inglês, *Peroxisome proliferator receptor activated alfa-PPAR $\alpha$* ) são receptores hormonais nucleares que atuam como fatores de transcrição ativado por ligante responsáveis pelo balanço na regulação do metabolismo celular, metabolismo de lipídios, diferenciação e respostas inflamatórias. Pertencem à família de fatores de transcrição nucleares ativados por ligantes o receptor *9-cis* ácido retinóico (RXR) e o receptor *trans* ácido retinóico (RAR) (JOHNSON et al., 2011). Para que induzam a transcrição dos genes alvos, deve combinar-se com os receptores X retinóide- $\alpha$  (RXR- $\alpha$ ), formando um heterodímero que se liga a sequências específicas de reconhecimento (PPREs) na região regulatória dos genes-alvo (BARDOT et al., 1993; KLIEWER et al., 1992). Alterações na atividade desses receptores nucleares tem papel chave em ambas às patologias como hiperplasia prostática benigna e câncer de próstata (JIANG et al., 2010a).

Proliferadores de peroxissomos fazem parte do grupo de compostos estruturalmente diversos que inclui drogas hipolipídicas, herbicidas e plastificantes industriais (MOODY et al., 1991). A administração destes compostos em ratos e camundongos resulta em aumento no tamanho e número de peroxissomos, acompanhados por aumentos na  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos peroxissomal (SCHULER et al., 2006) e  $\omega$ -hidroxilação microssomal (SHARMA; LAKE; GIBSON, 1988). Adicionalmente o PPAR $\alpha$  também são ativados por ácidos graxos e metabólicos de ácidos graxos levando a ativação de vários genes envolvidos no metabolismo assim como a transtietina e  $\alpha_2$ -globulina (JIANG et al., 2010a). O papel do PPAR $\alpha$  no metabolismo do ácido graxos foi confirmada pela geração de camundongos com alelos nulos para o gene de PPAR $\alpha$  (LEE et al., 1995; VAUGHAN et al., 2013a). Estes animais são fenotipicamente normais e tem nível basal de peroxissomos hepáticos, mas não é responsivo a proliferação de peroxissomos e não respondem a indução do gene alvo. No entanto esses camundongos possuem expressão alterada de enzimas mitocondriais para metabolização de ácidos graxos (PETERS et al., 1997). Em humanos, PPAR $\alpha$  tem alta expressão no fígado, coração e rins, porém é expressa em níveis mais baixos em outros tecidos (AUBOEUF et al., 1997). Os níveis de PPAR $\alpha$  em humanos são significativamente mais baixos quando comparados aos ratos e camundongos, porém possuem atividade funcional (HERTZ; BISHARA-SHIEBAN; BAR-TANA, 1995; VAUGHAN et al., 2013b).

A literatura demonstra que o PPAR $\alpha$  regula os glicocorticoides (COLLETT et al., 2000a; HEMING et al., 2018), insulina (CORZO; GRIFFIN, 2013), TNF- $\alpha$  (HEMING et al., 2018) e também está descrito a ação deste composto como gene responsivo a andrógenos em células prostáticas e com alta expressão em carcinomas prostáticos (COLLETT et al., 2000b) Verificou-se que os ácidos graxos e glicose ativam a via NF- $\kappa$ B em monócitos, elevando a produção de citocinas pró-inflamatórias (DICKINSON et

al., 2008). Por outro lado, a ativação do PPAR $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ , contra-regula a atividade do NF- $\kappa$ B, reduzindo a produção de citocinas por monócitos e aumentando a apoptose desse tipo celular, sugerindo que os processos inflamatórios mediados pelo NF- $\kappa$ B estão intimamente relacionados com fatores de transcrição que controlam genes alvos do metabolismo de lipídeos (LEFEBVRE et al., 2006).

A via de sinalização do NF- $\kappa$ B desempenha um papel importante nas respostas ao câncer, inflamação e estresse (MCCARTY; HEJAZI; RASTMANESH, 2014). NF- $\kappa$ B é um fator de transcrição encontrado no citoplasma ligado aos chamados inibidores de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B). A ativação do NF- $\kappa$ B por fatores de crescimento e inflamatórios é mediada através das proteínas quinases I $\kappa$ B (IKKS), que fosforilam I $\kappa$ B, resultando na ubiquitinação I $\kappa$ B $\alpha$  e subsequente degradação proteossômica (CARTER et al., 2016). Como consequência, o NF- $\kappa$ B é liberado do complexo I $\kappa$ B e se transloca para o núcleo, onde se liga em sítios consenso do DNA, ativando a expressão gênica (RAO; LOKESH, 2017). A ampla distribuição dos sítios de ligação do NF- $\kappa$ B no genoma permite regular um vasto número de genes e participar em processos celulares fundamentais, tais como apoptose, proliferação e diferenciação (DE BOSSCHER; VANDEN BERGHE; HAEGEMAN, 2006; FANG et al., 2011). O NF- $\kappa$ B responde a várias moléculas, como IL-1, TNF- $\alpha$ , citocromo P450, melatonina e metaloproteinases de matriz (MMPs) (Pham et al., 2004; Luo et al., 2005). Também, radicais livres são capazes de ativar NF- $\kappa$ B (Gong et al., 2001, Zhou et al., 2001). Estudos recentes demonstraram que o NF- $\kappa$ B está envolvido com a regulação de genes das enzimas antioxidantes, como a CAT e GSH-Px (MCCARTY; HEJAZI; RASTMANESH, 2014; PRUEITT et al., 2016).

Dados de estudos de terapia médica de sintomas prostáticos (MTOPS) sugerem que o risco de doenças prostáticas e retenção urinária são maiores em homens com inflamação prostática (FIBBI et al., 2010). Neste meio complexo de alterações sistêmicas,

nós sugerimos que alterações celulares no metabolismo de lipídios e proliferação podem interferir no meio celular prostático. PPAR $\alpha$  são receptores hormonais nucleares que atuam como fatores de transcrição ativado por ligante responsáveis pelo balance na regulação do metabolismo celular, metabolismo de lipídios, diferenciação e respostas inflamatórias. Alterações na atividade desses receptores nucleares tem papel chave em ambas patologias como BPH e câncer de próstata (FREEMAN; SOLOMON, 2011).

O exercício físico sistematizado com intensidade moderada ou vigorosa, são caracterizados por atividades que aumentam significativamente a demanda energética promovendo alterações agudas e crônicas tanto no metabolismo celular quanto no controle neuroendócrino (FORJAZ et al., 1998). De fato, estas alterações nos sistemas cardiovasculares e autonômicos, após o exercício físico agudo e crônico, têm feito com que o exercício seja fortemente sugerido como uma alternativa não-farmacológica no tratamento de diferentes patologias como a resistência à insulina, o diabetes mellitus e a hipertensão arterial (HSU et al., 2015; MANIO; MATSUMURA; INOUE, 2018; USLU et al., 2018). A prática regular de atividade física e exercícios físicos sistemáticos de forma aeróbica proporciona redução da pressão arterial sistólica e diastólica, melhoras na capacidade funcional, redução de circunferência abdominal, do peso e do percentual de gordura corporal, além de modular o sistema imune de um indivíduo, modificando a secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- $\alpha$ ) e a diferenciação de monócito em macrófagos do tipo M2 (anti-inflamatório) (HEMING et al., 2018; RAO; LOKESH, 2017; SILVEIRA et al., 2018), possibilita ainda de forma direta e indireta, melhoras em fatores psicossociais e, conseqüentemente, na qualidade de vida (LAVIE; MILANI, [s.d.]). No perfil lipídico, há evidências de que menores concentrações de colesterol total e de LDL colesterol são encontradas em amostras sanguíneas de sujeitos considerados ativos, quando comparados com aqueles sedentários. Da mesma forma, HDL colesterol e

triglicérides apresentam maior resposta ao exercício físico, com maior concentração de HDL colesterol e menor de triglicérides (DURSTINE, 2008). Com base em estudos prévios em nosso laboratório sugerimos que os treinamentos de força em ratos podem modificar o perfil lipídico e hormonal da próstata de ratos (TEIXEIRA et al., 2012). Desta forma faz-se necessário o conhecimento de diferentes possibilidades de intervenção, por meio do exercício físico, seja por meio de treinamento resistido, de exercícios aeróbios, e de seus efeitos sobre diferentes parâmetros, como o perfil metabólico, a composição corporal, em pessoas com fatores de risco para o desenvolvimento de Síndrome Metabólica (SM) (ALMEIDA et al., 2012; DA CRUZ FERNANDES et al., 2018).

As principais características da obesidade e alto consumo de dieta hiperlipídica são aumento de citocinas inflamatórias como IL-6 e TNF- $\alpha$  que produzem efeitos adversos no organismo, no entanto o exercício físico atua como inibidor destas vias, principalmente por potencializar a produção de citocinas anti-inflamatórias IL-10, IL-4 e IL-6 proveniente dos miócitos (DE AQUINO LEMOS et al., 2013).

Além disto as evidências científicas demonstrando que a prática de exercício físico regular age sobre o estresse oxidativo, intensificando as vias antioxidantes através da ativação de PGC-1 $\alpha$ , AP-1, e diminui o complexo enzimático geradores de superóxidos NADPH-oxidase (SALLAM; LAHER, 2016). Estudos com animais knockout PPAR- $\alpha$  e selvagens, (BATATINHA et al., 2017) verificaram que o exercício físico aeróbico modificou os parâmetros de composição corporal e armazenamento lipídico, em animais obesos, induzidos pela dieta hiperlipídica, e os animais selvagens apresentaram melhora nesses parâmetros em comparação com animais sem PPAR $\alpha$ . O exercício físico aumenta as expressões de PPAR $\alpha$  no fígado e desta forma atua reduzindo a esteatose hepática não alcóolica causada pela dieta hiperlipídica através do aumento da metabolização dos ácidos graxos acumulado no fígado. Isto ocorre pelo aumento da

transcrição de genes responsáveis pela lipólise, estimula AKT, inibe ação de proteínas lipogênicas como FOXO-1(XU; JIANG; DING, 2015). Foi verificado que em mulheres pré-menopausa o treinamento de endurance por 12-14 semanas induziu o aumento da atividade do PPAR- $\alpha$  e das enzimas reguladoras da  $\beta$ -oxidação, elevando a capacidade do músculo esquelético de oxidação de ácidos graxos, reafirmando o papel do exercício físico na regulação do metabolismo lipídico em conjunto com o PPAR- $\alpha$  (HOROWITZ et al., 2000).

O exercício aeróbio diminui gordura corporal, regulam o metabolismo de glicose e lipídios (JENKINS et al., 2014; SPRIET, 2014; VIEIRA et al., 2016) e o PPAR- $\alpha$  estimula a ligação de ácidos graxos, resultando em um menor quantidade nos tecidos (Fan et al., 2015; Ren et al., 2018), melhorando a expressão de genes envolvidos na absorção de lipídios (BATATINHA et al., 2017), beta- oxidação (SU et al., 2014) e níveis de HDL, podendo reduzir os risco de aterosclerose e resistência à insulina, agindo como fator terapêutico (ZHANG et al., 2011). E quando relacionado com o exercício físico aeróbio pode acarretar benefícios através, quando aumentando a expressão de PPAR- $\alpha$ , que tem como principal função homeostase celular e balanço energético (TAVARES; HIRATA; HIRATA, 2007).

Dados confirmam a ação do exercício físico aeróbio na regulação da próstata de ratos normais e submetidos a suplementações alimentares atuando como regulador do metabolismo lipídico e celular da próstata (JIANG et al., 2010b). (YAKEU et al., 2010) e (THOMAS et al., 2012) sugerem que a ativação PPAR $\alpha$  durante o exercício constitui uma nova e potencialmente fator anti-inflamatório e anti-aterogênico modulando o tecido. No entanto, é incipiente os estudos sobre a relação inflamatória e a participação do PPAR $\alpha$ , principalmente, nos mecanismos moleculares e fisiológicos modulados pela ausência ou envolvimento com diferentes programas de exercícios físicos.

## 1.3 OBJETIVOS

### *1.3.1 Objetivo Geral*

O objetivo deste trabalho foi verificar a participação do fator de transcrição gênica *PPAR- $\alpha$* , como possível regulador nos efeitos protetores do treinamento físico aeróbico através de alterações prostática de camundongos submetidos a dieta hiperlipídica.

### *1.3.2 Objetivo Específico*

Tais objetivos gerais serão alcançados através dos seguintes objetivos específicos:

- I. Caracterizar a histopatologia no lobo ventral de camundongos sedentário e treinados, selvagens e/ou nocautes para *PPAR $\alpha$* ;
- II. Quantificar (imunomarcção) e avaliar as interações funcionais entre o AR, GR e IGF-1.
- III. Caracterizar e comparar os efeitos da sobre os fatores indutores de lesão celular (TNF- $\alpha$ , IL-6, NF- $\kappa$ B), por imunomarcção;
- IV. Alterações prostáticas por imunomarcção do conteúdo proteico das enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico (FAS total e SREBP-1);

## 1.4 HIPÓTESE

Estamos verificando o efeito da dieta hiperlipídica associada a presença e ausência de *PPAR $\alpha$*  e seus efeitos associados ao exercício físico aeróbico na próstata de camundongos. Buscamos verificar alterações prostáticas promovidas pelo consumo de dieta hiperlipídica associada a ausência do fator de transcrição chamado *PPAR $\alpha$*  e se o

exercício físico pode regular ou até mesmos inibir efeitos prejudiciais a próstata. Assim, a dieta hiperlipídica e a ausência de PPAR $\alpha$  pode alterar a morfologia e balanço prostático levando a inflamação e crescimento celular e o exercício físico pode regular essas alterações.

A hipótese nula pode ser tangenciada a ausência de efeitos da dieta hiperlipídica associada a ausência de efeitos do exercício físico em camundongos selvagens e PPAR $\alpha$  ausente.

## 1.5 JUSTIFICATIVAS

A obesidade é um problema de saúde mundial que gera alto custo para o governo atualmente. Esta doença se desenvolve principalmente pela alimentação inadequada da população mundial rica em gorduras. Estar acima do peso pode acarretar um quadro de inflamação crônica responsável por atuar sobre diversos metabolismos do corpo, inclusive no ambiente prostático. Por ser uma glândula importante para o sistema reprodutor masculino, geralmente é alvo de diversas doenças, e os comportamentos que modulam a próstata têm tomado grandes proporções e atenção na comunidade científica. Os estudos sobre os mecanismos moleculares das doenças que acometem esta glândula tornam-se essenciais para entender a complexidade das interações que podem desencadear, prevenir ou tratar as doenças. O baixo grau de eficácia das terapias contra as lesões prostáticas proliferativas pode estar relacionado aos efeitos dessas terapias sobre os mecanismos de reparo tecidual, angiogênese, enzimas antioxidantes e inflamação. Em muitos cânceres, a natureza das inflamações que amplifica a lesão primária não é conhecida. Desta forma, torna-se difícil o planejamento correto de estratégias com propriedades eficientes para eliminação direta do gatilho para as lesões provocadas por esses diversos fatores.

Pesquisas em nosso laboratório apontam que o treinamento físico pode alterar o metabolismo prostático dos receptores hormonais e desta forma minimizar as alterações do ciclo celular na próstata de ratos. Para melhor entendimento desta vertente avaliaremos o perfil metabólico, inflamatório, assim como o fenótipo (pró ou anti-inflamatório) das células prostáticas enfatizando o papel central do PPAR $\alpha$  como fator de transcrição gênica nas alterações inflamatórias. Desta forma, faremos uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na ação do exercício físico aeróbio e seu impacto na elucidação das questões relacionadas à dislipidemia, bem como, o desenvolvimento de novas terapias envolvidas no processo inflamatório. Diante do exposto, enfatizamos que na literatura especializada não há trabalhos correlacionando fatores metabólicos com os fatores de inflamação, receptores hormonais com dieta hiperlipídica e exercício físico aeróbio no controle das lesões prostáticas. Portanto, a associação entre inflamação e o treinamento físico pode ser considerada uma promissora combinação para agir de forma terapêutica e preventiva.

## 1.6 REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, S. E. et al. Insights into the Link Between Obesity and Cancer. **Current Obesity Reports**, v. 6, n. 2, p. 195–203, jun. 2017.
- ALMEIDA, J. et al. Determination of the Maximal Lactate Steady State in Obese Zucker Rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 34, n. 03, p. 214–217, set. 2012.
- ALVAREZ, C. et al. High-Intensity Interval Training as a Tool for Counteracting Dyslipidemia in Women. **International Journal of Sports Medicine**, 2018.
- ASLE MOHAMMADI ZADEH, M. et al. Diets along with interval training regimes improves inflammatory & anti-inflammatory condition in obesity with type 2 diabetes subjects. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v. 17, n. 2, p. 253–267, dez. 2018.
- AUBOEU, D. et al. Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor-alpha in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. **Diabetes**, v. 46, n. 8, p. 1319–27, ago. 1997.
- BACURAU, A. V. N. et al. Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor bearing rats. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, v. 232, n. 10, p. 1289–99, nov. 2007.
- BAE, J. Y. et al. The effects of detraining and training on adipose tissue lipid droplet in obese mice after chronic high-fat diet. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 2017.
- BANERJEE, P. P. et al. Androgen action in prostate function and disease. **American journal of clinical and experimental urology**, v. 6, n. 2, p. 62–77, 2018.
- BAPTISTA, D. B. et al. Effect of concurrent training and supplementation with  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) on the prostate: Alterations in the androgen receptor and inflammation. **International Journal of Morphology**, v. 36, n. 1, 2018.
- BARDOT, O. et al. PPAR-RXR Heterodimer Activates a Peroxisome Proliferator Response Element Upstream of the Bifunctional Enzyme Gene. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 192, n. 1, p. 37–45, abr. 1993.
- BATATINHA, H. A. P. et al. Association Between Aerobic Exercise and Rosiglitazone Avoided the NAFLD and Liver Inflammation Exacerbated in PPAR- $\alpha$  Knockout Mice. **Journal of Cellular Physiology**, v. 232, n. 5, p. 1008–1019, 2017.
- BERGER, N. A. Obesity and cancer pathogenesis. **Annals of the New York Academy**

**of Sciences**, v. 1311, p. 57–76, abr. 2014.

BERRY, P. A.; MAITLAND, N. J.; COLLINS, A. T. Molecular and Cellular Endocrinology Androgen receptor signalling in prostate : Effects of stromal factors on normal and cancer stem cells. v. 288, p. 30–37, 2008.

BIANCO, J. J. et al. Transient neonatal estrogen exposure to estrogen-deficient mice (aromatase knockout) reduces prostate weight and induces inflammation in late life. **The American journal of pathology**, v. 168, n. 6, p. 1869–78, jun. 2006.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

CANO, A. M.; MURPHY, E. S.; LUPFER, G. Delay discounting predicts binge-eating in Wistar rats. **Behavioural Processes**, v. 132, p. 1–4, nov. 2016.

CARIELLO, M. et al. LXRs, SHP, and FXR in Prostate Cancer: Enemies or *Ménage à Quatre* With AR? **Nuclear Receptor Signaling**, v. 15, p. 155076291880107, jan. 2018.

CARTER, S. L. et al. IKB $\alpha$  mediates prostate cancer cell death induced by combinatorial targeting of the androgen receptor. **BMC Cancer**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 2016.

CASABURI, I. et al. Cholesterol as an Endogenous ERR $\alpha$  Agonist: A New Perspective to Cancer Treatment. **Frontiers in endocrinology**, v. 9, p. 525, 2018.

CHEN, W.; BALLAND, E.; COWLEY, M. A. Hypothalamic Insulin Resistance in Obesity: Effects on Glucose Homeostasis. **Neuroendocrinology**, v. 104, n. 4, p. 364–381, 2017.

COHEN, P. et al. Elevated levels of insulin-like growth factor-binding protein-2 in the serum of prostate cancer patients. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 76, n. 4, p. 1031–1035, abr. 1993.

COHEN, P.; PEEHL, D. M.; ROSENFELD, R. G. The IGF axis in the prostate. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**, v. 26, n. 2, p. 81–4, fev. 1994.

COLLETT, G. P. et al. Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\alpha$  Is an Androgen-responsive Gene in Human Prostate and Is Highly Expressed in Prostatic Adenocarcinoma Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\alpha$  Is an Androgen-responsive Gene in Human Prostate and Is Highly . p. 3241–3248, 2000a.

COLLETT, G. P. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha is an androgen-responsive gene in human prostate and is highly expressed in prostatic adenocarcinoma. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer**

**Research**, v. 6, n. 8, p. 3241–8, ago. 2000b.

CORZO, C.; GRIFFIN, P. R. Targeting the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  to counter the inflammatory milieu in obesity. **Diabetes and Metabolism Journal**, v. 37, n. 6, p. 395–403, 2013.

CUI, X. et al. Genetic Variations in Inflammatory Response Genes and Their Association with the Risk of Prostate Cancer. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–7, 2015.

CUNHA, G. R. et al. Development of the human prostate. **Differentiation**, set. 2018.

CUNHA, G. R.; MATRISIAN, L. M. It's not my fault, blame it on my microenvironment. **Differentiation**, v. 70, n. 9–10, p. 469–472, dez. 2002.

DA CRUZ FERNANDES, I. M. et al. Low back pain, obesity, and inflammatory markers: exercise as potential treatment. **Journal of exercise rehabilitation**, v. 14, n. 2, p. 168–174, abr. 2018.

DE AQUINO LEMOS, V. et al. Can High Altitude Influence Cytokines and Sleep? **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

DE BOSSCHER, K.; VANDEN BERGHE, W.; HAEGEMAN, G. Cross-talk between nuclear receptors and nuclear factor  $\kappa$ B. **Oncogene**, v. 25, n. 51, p. 6868–6886, 2006.

DENG, X.-L. et al. Insulin resistance in ischemic stroke. **Metabolic Brain Disease**, v. 32, n. 5, p. 1323–1334, out. 2017.

DICKINSON, S. et al. High-glycemic index carbohydrate increases nuclear factor- $\kappa$ B activation in mononuclear cells of young, lean healthy subjects1-3. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1188–1193, 2008.

DURSTINE, J. L. Effect of Aerobic Exercise on High-Density Lipoprotein Cholesterol: A Meta-analysis. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 18, n. 1, p. 107–108, jan. 2008.

EARNEST, C. P. et al. Maximal estimated cardiorespiratory fitness, cardiometabolic risk factors, and metabolic syndrome in the aerobics center longitudinal study. **Mayo Clinic proceedings**, v. 88, n. 3, p. 259–70, mar. 2013.

FANG, Y. et al. Antitumor activity of NF- $\kappa$ B decoy oligodeoxynucleotides in a prostate cancer cell line. **Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP**, v. 12, n. 10, p. 2721–6, 2011.

FIBBI, B. et al. Chronic inflammation in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. v. 33, n. 1997, p. 475–488, 2010.

FORJAZ, C. L. et al. [Effect of exercise duration on the magnitude and duration of post-exercise hypotension]. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 70, n. 2, p. 99–104, fev. 1998.

FOUCAUT, A.-M. et al. Feasibility of an exercise and nutritional intervention for weight management during adjuvant treatment for localized breast cancer: the PASAPAS randomized controlled trial. **Supportive Care in Cancer**, p. 1–13, jan. 2019.

FREEMAN, M. R.; SOLOMON, K. R. Cholesterol and benign prostate disease. **Differentiation**, v. 82, n. 4–5, p. 244–252, 2011.

FUJITA, K. et al. Obesity, Inflammation, and Prostate Cancer. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 2, p. 201, 2019.

GACCI, M. et al. Metabolic syndrome and lower urinary tract symptoms: the role of inflammation. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 16, n. 1, p. 101–106, mar. 2013.

GEORGIADI, A.; KERSTEN, S. Mechanisms of gene regulation by fatty acids. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 3, n. 2, p. 127–34, mar. 2012.

GUERITAT, J. et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 77, p. 95–105, dez. 2014.

HASENOEHRL, T. et al. The effects of resistance exercise on physical performance and health-related quality of life in prostate cancer patients: a systematic review. **Supportive Care in Cancer**, v. 23, n. 8, p. 2479–2497, 2015.

HAYWARD, S. W.; CUNHA, G. R. The prostate: development and physiology. **Radiologic clinics of North America**, v. 38, n. 1, p. 1–14, jan. 2000.

HEMING, M. et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  Modulates the Response of Macrophages to Lipopolysaccharide and Glucocorticoids. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 893, 2018.

HENNUYER, N. et al. The novel selective PPAR $\alpha$  modulator (SPPARM $\alpha$ ) pemafibrate improves dyslipidemia, enhances reverse cholesterol transport and decreases inflammation and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 249, p. 200–208, jun. 2016.

HERTZ, R.; BISHARA-SHIEBAN, J.; BAR-TANA, J. Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. Suppression of apolipoprotein C-III. **The Journal of biological chemistry**, v. 270, n. 22, p. 13470–5, jun. 1995.

HOROWITZ, J. F. et al. Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR $\alpha$  in the metabolic response to training. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 279, n. 2, p. E348–E355, ago. 2000.

HSING, A. W.; SAKODA, L. C.; JR, S. C. C. Obesity , metabolic syndrome , and prostate

cancer 1 – 4. v. 86, 2007.

HSU, C.-Y. et al. Effects of Exercise Training on Autonomic Function in Chronic Heart Failure: Systematic Review. **BioMed research international**, v. 2015, p. 591708, 2015.

JAKOVLJEVIC, B. et al. The impact of aerobic and anaerobic training regimes on blood pressure in normotensive and hypertensive rats: focus on redox changes. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 0, n. 0, p. 0, 2018.

JENKINS, N. D. M. et al. CLA Supplementation and Aerobic Exercise Lower Blood Triacylglycerol, but Have No Effect on Peak Oxygen Uptake or Cardiorespiratory Fatigue Thresholds. **Lipids**, v. 49, n. 9, p. 871–880, set. 2014.

JERDE, T. J.; BUSHMAN, W. IL-1 induces IGF-dependent epithelial proliferation in prostate development and reactive hyperplasia. **Science signaling**, v. 2, n. 86, p. ra49, set. 2009.

JIANG, M. et al. Disruption of PPAR $\gamma$  signaling results in mouse prostatic intraepithelial neoplasia involving active autophagy. **Cell Death & Differentiation**, v. 17, n. 3, p. 469–481, mar. 2010a.

JIANG, M. et al. Disruption of PPAR $\gamma$  signaling results in mouse prostatic intraepithelial neoplasia involving active autophagy. **Cell death and differentiation**, v. 17, n. 3, p. 469–81, mar. 2010b.

JOHNSON, C. et al. Regulation of Serum Response Factor and Adiponectin by PPAR  $\gamma$  Agonist Docosahexaenoic Acid. **Journal of Lipids**, v. 2011, p. 1–8, 2011.

KLIEWER, S. A. et al. Retinoid X receptor-COUP-TF interactions modulate retinoic acid signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 4, p. 1448–52, fev. 1992.

KOVACS, P.; STUMVOLL, M. Fatty acids and insulin resistance in muscle and liver. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 19, n. 4, p. 625–635, dez. 2005.

KROUT, D. et al. The TRPC1 Ca<sup>2+</sup>-permeable channel inhibits exercise-induced protection against high-fat diet-induced obesity and type II diabetes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 50, p. 20799–20807, dez. 2017.

LAMB, A. D.; MASSIE, C. E.; NEAL, D. E. The transcriptional programme of the androgen receptor (AR) in prostate cancer. **BJU International**, v. 113, n. 3, p. 358–366, 2014.

LAVIE, C. J.; MILANI, R. V. Cardiac rehabilitation and exercise training programs in metabolic syndrome and diabetes. **Journal of cardiopulmonary rehabilitation**, v. 25,

n. 2, p. 59–66, [s.d.].

LEE, S. S. et al. Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. **Molecular and cellular biology**, v. 15, n. 6, p. 3012–22, jun. 1995.

LEFEBVRE, P. et al. Review series Sorting out the roles of PPAR  $\alpha$  in energy metabolism and vascular homeostasis. v. 116, n. 3, p. 571–580, 2006.

LI, X. et al. Fatostatin displays high antitumor activity in prostate cancer by blocking SREBP-regulated metabolic pathways and androgen receptor signaling. **Molecular cancer therapeutics**, v. 13, n. 4, p. 855–66, abr. 2014.

LIAO, M.-T. et al. Intradialytic aerobic cycling exercise alleviates inflammation and improves endothelial progenitor cell count and bone density in hemodialysis patients. **Medicine**, v. 95, n. 27, p. e4134, jul. 2016.

LIU, G. et al. Prostate-specific IL-6 transgene autonomously induce prostate neoplasm through amplifying inflammation in the prostate and peri-prostatic adipose tissue. **Journal of hematology & oncology**, v. 10, n. 1, p. 14, 2017.

LIU, J. et al. High-calorie diet exacerbates prostate neoplasia in mice with haploinsufficiency of Pten tumor suppressor gene. **Molecular Metabolism**, v. 4, n. 3, p. 186–198, 2015.

MA, Z. et al. The effect of mast cells on the biological characteristics of prostate cancer cells. **Central-European journal of immunology**, v. 43, n. 1, p. 1–8, 2018.

MANIO, M. C.; MATSUMURA, S.; INOUE, K. Low-fat diet, and medium-fat diets containing coconut oil and soybean oil exert different metabolic effects in untrained and treadmill-trained mice. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 29, jun. 2018.

MANN, S.; BEEDIE, C.; JIMENEZ, A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. **Sports Medicine**, v. 44, n. 2, p. 211–221, 2014.

MARINO, J. S. et al. Glucocorticoid receptor  $\beta$  induces hepatic steatosis by augmenting inflammation and inhibition of the Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR)  $\alpha$ . **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 50, p. 25776–25788, 2016.

MARZO, A. M. DE et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. v. 7, n. April, 2007.

MCCARTY, M. F.; HEJAZI, J.; RASTMANESH, R. Beyond androgen deprivation: Ancillary integrative strategies for targeting the androgen receptor addiction of prostate

cancer. **Integrative Cancer Therapies**, v. 13, n. 5, p. 386–395, 2014.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428–435, 2008.

MENDES, L. O. et al. Testosterone Therapy Differently Regulates the Anti- and Pro-Inflammatory Cytokines in the Plasma and Prostate of Rats Submitted to Chronic Ethanol Consumption (UChB). **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 72, n. 3, p. 317–325, set. 2014.

MONTEIRO, P. A. et al. Concurrent and aerobic exercise training promote similar benefits in body composition and metabolic profiles in obese adolescents. **Lipids in health and disease**, v. 14, p. 153, nov. 2015.

MOODY, D. E. et al. Peroxisome proliferation and nongenotoxic carcinogenesis: commentary on a symposium. **Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology**, v. 16, n. 2, p. 233–48, fev. 1991.

NAM, S. Y. et al. Effect of obesity on total and free insulin-like growth factor (IGF)-1, and their relationship to IGF-binding protein (BP)-1, IGFBP-2, IGFBP-3, insulin, and growth hormone. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 21, n. 5, p. 355–9, maio 1997.

NGUYEN, D. P.; LI, J.; TEWARI, A. K. Inflammation and prostate cancer: The role of interleukin 6 (IL-6). **BJU International**, v. 113, n. 6, p. 986–992, 2014.

NICHOLSON, T. M.; RICKE, W. A. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia : Past , present and future. **Differentiation**, p. 1–16, 2011.

NINGYAN, G. et al. The Role of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Mast Cell-Stimulated Fibroblast Proliferation and Collagen Production. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0122482, mar. 2015.

NOGUCHI, J. L.; LISS, M. A.; PARSONS, J. K. Obesity , Physical Activity and Bladder Cancer. 2015.

PANDALAI, P. K. et al. The effects of omega-3 and omega-6 fatty acids on in vitro prostate cancer growth. **Anticancer research**, v. 16, n. 2, p. 815–20, [s.d.].

PAWLAK, M.; LEFEBVRE, P.; STAELS, B. Molecular mechanism of PPAR $\alpha$  action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 62, n. 3, p. 720–733, mar. 2015.

PEISCH, S. F. et al. Prostate cancer progression and mortality: a review of diet and lifestyle factors. **World Journal of Urology**, v. 35, n. 6, p. 867–874, 2017.

PERNAR, C. H. et al. A Prospective Study of the Association between Physical Activity and Risk of Prostate Cancer Defined by Clinical Features and TMPRSS2:ERG. **European Urology**, out. 2018.

PETERS, J. M. et al. Alterations in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-deficient mice. **The Journal of biological chemistry**, v. 272, n. 43, p. 27307–12, out. 1997.

PRUEITT, R. L. et al. An immune-inflammation gene expression signature in prostate tumors of smokers. **Cancer Research**, v. 76, n. 5, p. 1055–1065, 2016.

RAO, Y. P. C.; LOKESH, B. R. Down-regulation of NF- $\kappa$ B expression by n-3 fatty acid-rich linseed oil is modulated by PPAR $\gamma$  activation, eicosanoid cascade and secretion of cytokines by macrophages in rats fed partially hydrogenated vegetable fat. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 1135–1147, abr. 2017.

REN, L. et al. Chronic treatment with the modified Longdan Xiegan Tang attenuates olanzapine-induced fatty liver in rats by regulating hepatic de novo lipogenesis and fatty acid beta-oxidation-associated gene expression mediated by SREBP-1c, PPAR-alpha and AMPK-alpha. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 176–187, mar. 2019.

RIEKEN, M. et al. Association of Cigarette Smoking and Smoking Cessation with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer in Patients Treated with Radical Prostatectomy. **European Urology**, v. 68, n. 6, p. 949–956, 2015.

SAKUMA, K. et al. p62/SQSTM1 but not LC3 is accumulated in sarcopenic muscle of mice. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 7, n. 2, p. 204–212, 2016.

SALLAM, N.; LAHER, I. Exercise Modulates Oxidative Stress and Inflammation in Aging and Cardiovascular Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–32, 2016.

SANTA MINA, D. et al. Exercise effects on adipokines and the IGF axis in men with prostate cancer treated with androgen deprivation: A randomized study. **Canadian Urological Association journal = Journal de l'Association des urologues du Canada**, v. 7, n. 11–12, p. E692-8, 2013.

SCHULER, M. et al. PGC1 $\alpha$  expression is controlled in skeletal muscles by PPAR $\beta$ , whose ablation results in fiber-type switching, obesity, and type 2 diabetes. **Cell Metabolism**, v. 4, n. 5, p. 407–414, nov. 2006.

SEGUE, M. et al. Excessive training induces molecular signs of pathologic cardiac hypertrophy. **Reproductive Toxicology**, v. 35, n. 1, p. 179–189, 2018.

SHARMA, R.; LAKE, B. G.; GIBSON, G. G. Co-induction of microsomal cytochrome

P-452 and the peroxisomal fatty acid  $\beta$ -oxidation pathway in the rat by clofibrate and di-(2-ethylhexyl)phthalate: Dose-response studies. **Biochemical Pharmacology**, v. 37, n. 7, p. 1203–1206, abr. 1988.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2018. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 1, p. 7–30, jan. 2018.

SILVEIRA, L. S. et al. Exercise rescues the immune response fine-tuned impaired by peroxisome proliferator-activated receptors  $\gamma$  deletion in macrophages. **Journal of Cellular Physiology**, set. 2018.

SILVEIRA, L. S. et al. Exercise rescues the immune response fine-tuned impaired by peroxisome proliferator-activated receptors  $\gamma$  deletion in macrophages. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 4, p. 5241–5251, abr. 2019.

SMITH, K. B.; SMITH, M. S. Obesity Statistics. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 43, n. 1, p. 121–135, mar. 2016.

SOUZA, C. O. et al. Palmitoleic acid reduces the inflammation in LPS-stimulated macrophages by inhibition of NF $\kappa$ B, independently of PPARs. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 44, n. 5, p. 566–575, maio 2017.

SPRIET, L. L. New Insights into the Interaction of Carbohydrate and Fat Metabolism During Exercise. **Sports Medicine**, v. 44, n. S1, p. 87–96, maio 2014.

STUBBS, E. B. et al. Randomized Controlled Trial of Physical Exercise in Diabetic Veterans With Length-Dependent Distal Symmetric Polyneuropathy. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, n. February, p. 1–19, 2019.

SU, Q. et al. Hepatic mitochondrial and ER stress induced by defective PPAR $\alpha$  signaling in the pathogenesis of hepatic steatosis. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 306, n. 11, p. E1264-73, jun. 2014.

SUZUKI, Y.; YOKOYAMA, O.; OKADA, K. [Overview of diagnosis of prostate cancer]. **Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine**, v. 60 Suppl 1, p. 95–9, dez. 2002.

SWINNEN, J. V et al. Androgens , lipogenesis and prostate cancer. v. 92, p. 273–279, 2004.

TAO, R. et al. Cynomorium songaricum Rupr Demonstrates Phytoestrogenic or Phytoandrogenic like Activities that Attenuates Benign Prostatic Hyperplasia via Regulating Steroid 5- $\alpha$ -Reductase. **Journal of Ethnopharmacology**, jan. 2019.

TAVARES, V.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ): molecular study in glucose homeostasis, lipid

metabolism and therapeutic approach. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 51, n. 4, p. 526–533, 2007.

TAYLOR, R. A.; TOIVANEN, R.; RISBRIDGER, G. P. Stem cells in prostate cancer : treating the root of the problem. 2010.

TEIXEIRA, G. R. et al. Physical exercise on the rat ventral prostate: Steroid hormone receptors, apoptosis and cell proliferation. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 22, n. 5, p. e86–e92, 2012.

TEIXEIRA, G. R. et al. Physical resistance training-induced changes in lipids metabolism pathways and apoptosis in prostate Department of Physical Education , São Paulo State University - UNESP , School of Technology and Sciences , Presidente Prudente , SP , Brazil ; Postgradua. p. 5–6, 2019.

TENNANT, M. K. et al. Protein and messenger ribonucleic acid (mRNA) for the type 1 insulin-like growth factor (IGF) receptor is decreased and IGF-II mRNA is increased in human prostate carcinoma compared to benign prostate epithelium. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 81, n. 10, p. 3774–82, out. 1996.

TEWARI, R. et al. Diet, obesity, and prostate health: Are we missing the link. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 5, p. 763–776, 2012.

THOMAS, A. W. et al. Exercise-associated generation of PPAR $\gamma$  ligands activates PPAR $\gamma$  signaling events and upregulates genes related to lipid metabolism. **Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 5, p. 806–815, mar. 2012.

TSILIDIS, K. K. et al. Burden of Cancer in a Large Consortium of Prospective Cohorts in Europe. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 108, n. 10, p. 1–7, 2016.

UNTERGASSER, G.; MADERSBACHER, S.; BERGER, P. Benign prostatic hyperplasia : age-related tissue-remodeling. v. 40, p. 121–128, 2005.

USLU, S. et al. The effects of aerobic exercise frequencies on liver fibrosis,  $\alpha$ -fetoprotein and cytokeratin 19 in experimental type 2 diabetes-induced rats: an immunohistochemistry study. **Biotechnic & Histochemistry**, p. 1–8, set. 2018.

VAUGHAN, R. A. et al. Tumor necrosis factor alpha increases aerobic glycolysis and reduces oxidative metabolism in prostate epithelial cells. **The Prostate**, v. 73, n. 14, p. 1538–1546, out. 2013a.

VAUGHAN, R. A. et al. Tumor necrosis factor alpha increases aerobic glycolysis and reduces oxidative metabolism in prostate epithelial cells. **The Prostate**, v. 73, n. 14, p. 1538–46, out. 2013b.

VIEIRA, A. F. et al. Effects of aerobic exercise performed in fasted v. fed state on fat and

carbohydrate metabolism in adults: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 07, p. 1153–1164, out. 2016.

VIGNOZZI, L. et al. Benign prostatic hyperplasia: a new metabolic disease? **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 37, n. 4, p. 313–322, abr. 2014.

VIKRAM, A.; JENA, G.; RAMARAO, P. Insulin-resistance and benign prostatic hyperplasia: The connection. **European Journal of Pharmacology**, v. 641, n. 2–3, p. 75–81, set. 2010.

WANG, X.; HU, Y.; WEI, H. Nanozymes in bionanotechnology: from sensing to therapeutics and beyond. **Inorg. Chem. Front.**, v. 3, n. 1, p. 41–60, 2016.

WANG, Y. et al. Decreased growth of established human prostate LNCaP tumors in nude mice fed a low-fat diet. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 87, n. 19, p. 1456–62, out. 1995.

WANG, Z.; OLUMI, A. F. Diabetes, growth hormone-insulin-like growth factor pathways and association to benign prostatic hyperplasia. **Differentiation**, v. 82, n. 4–5, p. 261–271, 2011.

WEIBEL, E. R. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 12, p. 131–55, fev. 1963.

XU, H.; JIANG, H. W.; DING, Q. Insulin-Like growth factor 1 related pathways and high-fat diet promotion of transgenic adenocarcinoma mouse prostate (TRAMP) cancer progression. **Actas urologicas espanolas**, v. 39, n. 3, p. 161–168, 2015.

YAKEU, G. et al. Low-intensity exercise enhances expression of markers of alternative activation in circulating leukocytes: roles of PPAR $\gamma$  and Th2 cytokines. **Atherosclerosis**, v. 212, n. 2, p. 668–73, out. 2010.

YOO, S. et al. Effects of metabolic syndrome on the prevalence of prostate cancer: historical cohort study using the national health insurance service database. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, p. 1–6, jan. 2019.

ZENG, H. et al. Resveratrol improves prostate fibrosis during progression of urinary dysfunction in chronic prostatitis by mast cell suppression. **Molecular medicine reports**, v. 17, n. 1, p. 918–924, jan. 2018.

ZHANG, S. et al. Exercise Improved Rat Metabolism by Raising PPAR- $\alpha$ . **International Journal of Sports Medicine**, v. 32, n. 08, p. 568–573, ago. 2011.

ZHANG, Y. et al. PPAR $\alpha/\gamma$  agonists and antagonists differently affect hepatic lipid metabolism, oxidative stress and inflammatory cytokine production in steatohepatic

rats. **Cytokine**, v. 75, n. 1, p. 127–135, set. 2015.

ZHAO, R. et al. Finasteride accelerates prostate wound healing after thulium laser resection through DHT and AR signalling. **Cell Proliferation**, v. 51, n. 3, p. e12415, jun. 2018.

## **2. RESULTADOS**

Os resultados desta dissertação estão detalhados em forma de artigo científico intitulado “Ausência de PPAR- $\alpha$  na próstata: modificações morfológicas e moleculares associadas ao exercício físico aeróbico” será encaminhada para avaliação na revista *Metabolism Clinical and Experimental*, Qualis/CAPES A1, JCR 86 e Fator de Impacto 5,9.

## 2.1 ARTIGO

### AUSÊNCIA DE PPAR- $\alpha$ NA PRÓSTATA: MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS E MOLECULARES ASSOCIADAS AO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO

#### RESUMO

*Objetivo:* é verificar a participação do fator de transcrição gênica PPAR- $\alpha$ , como possível regulador nos efeitos protetores do treinamento físico aeróbico através de alterações prostática de camundongos submetidos a dieta padrão e dieta hiperlipídica, analisando as alterações morfológicas e expressão proteica na próstata.

*Métodos:* Foram utilizados deficientes para PPAR $\alpha$  (KO) e camundongos controles da linhagem C57BL/6J selvagens (10 semanas de idade). Foram alimentados com dieta padrão, e dieta hiperlipídica (HFD) foi composta por 26% de carboidratos, 59% de lipídios e 15% de proteína. O treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira ergométrica a 60% da velocidade máxima, 5 dias por semana, 10m/min durante 60 minutos, por 12 semanas de tratamento.

*Resultados:* A HFD induz alterações teciduais prostáticas, aumento de mastócitos, aumento proteico relacionado com receptores de andrógenos (AR), receptores de glicocorticoides (GR), receptor de morte celular (Fas), linfoma de células B -2 (BCL-2) e BCL-2 associado a proteína X (BAX) interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B). No entanto, o exercício físico aeróbico modulou a próstata reduzindo a ativação de receptores esteroides, e reduzindo a inflamação, independente da ação de PPAR $\alpha$ .

*Conclusão:* Nossos achados sugerem que o exercício físico aeróbico suprime as lesões prostáticas induzidas por HFD, reduzindo a inflamação prostática.

*Palavras-chave:* Inflamação, próstata, exercício físico, PPAR $\alpha$ .

## 1. Introdução

A obesidade é uma doença multifatorial caracterizada pelo aumento da gordura visceral e subcutânea, também está associada com os níveis hormonais alterados, mudanças metabólicas e teciduais [1,2]. Considerada uma epidemia mundial, com cerca de 2,1 bilhões de pessoas no mundo obesas, principalmente em países desenvolvidos, tornando-se um problema de saúde pública [3], além de ser um precursor da diabetes mellitus tipo 2 promovida pela resistência insulínica [4,5], condições estas que resultam em mudanças no metabolismo de glicose e lipídios causando um elevado nível de insulina em jejum [6]. Obesidade está relacionada ao estilo de vida, a prática insuficiente de atividade física, alcoolismo, tabagismo e consumo constante de gorduras, podem provocar danos teciduais prostáticos [7,8].

Os ácidos graxos, provindos da dieta hiperlipídica (HFD), possuem uma importante função na ativação de vias inflamatórias, contribuindo para a promoção da inflamação crônica tecidual [9], aumentando o índice de gordura corporal, conseqüentemente levando a obesidade. Estudos relatam que a alta incidência do consumo de lipídios, baixo consumo de nutrientes e prática insuficiente de atividade física, podem estimular as vias pró-inflamatórias, aumentando o risco de lesões prostáticas [10–12]. Alguns dos principais mecanismos envolvidos no crescimento da próstata são potenciais alvos terapêuticos que incluem alterações no estado hormonal, alterações no eixo insulina/IGF/IGFBP, inflamação e alterações no metabolismo resultante da estimulação anormal persistente [6]. Evidências sugerem que a obesidade pode mudar o eixo Hipotálamos-Hipófise-Gônada e reduzir os níveis circulantes de andrógenos promovendo feedback negativo e aumento do receptor de andrógeno prostáticos [13].

O receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa (PPAR $\alpha$ ), é da família de receptores hormonais nucleares, expressos principalmente em órgão como o fígado, coração e músculo estriado esquelético. O PPAR $\alpha$  atua como fatores de transcrição ativados por ligante responsáveis pela regulação do metabolismo de lipídios e glicose, diferenciação celular e respostas inflamatórias [14,15]. Alterações negativas na atividade desses receptores nucleares possuem um papel chave na hiperplasia prostática benigna e no câncer de próstata [16,17]. O PPAR $\alpha$  pode regular vias inflamatórias interferindo inibindo a ativação do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), e conseqüentemente reduzindo a expressão de fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6) [18,19]. O aumento da resposta inflamatória promove alterações metabólicas, interferindo em diversas alterações teciduais como alguns tipos de canceres [20], induzindo danos no DNA, estimulando o aumento da proliferação celular, inibição da apoptose e desenvolvimento da angiogênese [21,22].

Estudos experimentais em animais e epidemiológicos em humanos sugerem que a prática regular de exercício físico reduz os riscos de danos prostáticos [23,24], embora os mecanismos pelo qual o exercício possa atuar sejam obscuro, as pesquisas demonstram que a prática de exercício físico regular auxilia na progressão de neoplasias malignas [24,25], além de modular o sistema imunológico modificando a secreção de citocinas pró-inflamatórias como NF- $\kappa$ B, IL-6, TNF- $\alpha$  [26]. Com base em estudos do nosso laboratório, sugerimos que o treinamento de força em ratos modula o perfil lipídico e hormonal da próstata de ratos Wistar [27]. Outro achado confirmou que o exercício físico realizado de forma combinada (aeróbio e anaeróbio na mesma sessão de treinamento), foi capaz de reduzir a inflamação prostática em ratos [28]. No entanto, é incipiente os estudos sobre a relação inflamatória e a participação do PPAR $\alpha$  principalmente nos mecanismos moleculares e fisiológicos modulados pela ausência ou envolvimento com protocolo de

treinamento físico. Contudo o objetivo do presente estudo é verificar a participação do fator de transcrição gênica PPAR- $\alpha$ , como possível regulador nos efeitos protetores do treinamento físico aeróbico através de alterações prostática de camundongos submetidos a dieta padrão e dieta hiperlipídica, analisando as alterações morfológicas e expressão proteica na próstata.

## **Materiais e Métodos**

### *Animais e dieta*

Os procedimentos experimentais deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal ICB/USP (Protocolo CEUA 112/13). Camundongos (background C57BL/6J) machos do tipo selvagens (WT) e deficientes em PPAR $\alpha$  (KO), mantidos em ciclo claro/escuro de 12h ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com dieta normal (ração Nuvital da Nuvilab, Colombo, PR) e água ad libitum até o início dos tratamentos (30-40 dias de idade). Os animais deficientes de PPAR $\alpha$  foram fornecidos pelo Laboratório de Sinalização Celular do Departamento de Fisiologia e Biofísica da USP.

### *Grupos experimentais*

Os camundongos WT e KO foram divididos em 8 grupos: animais selvagens alimentados com dieta padrão (SD); animais selvagens alimentados com dieta hiperlipídica (WT-HF); animais selvagens alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento físico aeróbio (WT-HFT); animais deficientes em PPAR- $\alpha$  alimentados com dieta hiperlipídica (KO-HF); animais deficientes em PPAR- $\alpha$  alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento físico aeróbio (KO-HFT)

Os animais foram suplementados com as dietas durante 12 semanas. A dieta hiperlipídica foi composta por 26% de carboidratos, 59% de lipídios e 15% de proteína. Os animais do grupo SD foram mantidos com a dieta balanceada que consiste em 76% de carboidratos, 9% de lipídios e 15% de proteína (Figura 1)

#### *Protocolo de treinamento físico aeróbio*

Foi realizado o teste capacidade máxima para determinar a carga de treinamento, onde os animais aqueceram por 5 minutos na esteira rolante com velocidade de 10 metros/minuto (m/m), início do teste a partir do sexto minuto, aumentando a velocidade em 3m/m a cada minuto. A exaustão se deu por alterações biomecânicas na corrida do animal. Após o teste, o treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira ergométrica a 60% da velocidade máxima, 5 dias por semana, 10m/min durante 60 minutos, da 5ª a 12ª semana de dieta [29]. Na 4ª semana de suplementação da dieta, os animais foram adaptados na esteira rolante por 5 dias, e o teste máximo foi realizado na 4ª semana, antes do início do treinamento para determinar a carga máxima, na 8ª semana para o ajuste da carga de trabalho e na 12ª semana para verificar se houveram alterações.

#### *Análises antropométricas e perfil metabólico*

Os animais foram pesados semanalmente durante o estudo para obtenção do peso corporal e ganho de peso, a próstata foi pesada após a coleta para calcular o peso relativo e absoluto. O índice adiposo foi composto pela soma total dos tecidos adiposos retro peritoneal, epididímal e subcutâneo. Foram coletadas amostras sanguíneas para análises dos níveis de colesterol total, glicose, ácidos graxos livre e triglicerídeo. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) e de baixa densidade (LDL) foram analisadas pelo método colorimétrico, obtido da Labtest, Brasil. O colesterol total, níveis de triglicerídeo, ácidos

graxos e glicose foram determinados por métodos enzimáticos (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil).

### *Análises histológicas*

Após 12 semanas de experimento, os animais foram sacrificados, a próstata ventral foi coletada, pesada e processada para análises histopatológicas e imunohistoquímicas. Posteriormente foi fixada em solução bouin, lavadas ao álcool 70%, desidratados, diafanizado, emblocada em paraplástico e cortada em 5  $\mu\text{m}$  de espessura. Para a análise histológica, foi utilizada a coloração de hematoxilina & eosina (H&E). Para a análise de tecido conjuntivo foi utilizada a coloração de tricômico de masson, e a identificação do volume tecidual na próstata ventral foi realizada por análise estereológica de Weibel, (1963). Foram quantificadas 10 secções dos tecidos, ampliados em 40x, por animal, de cada grupo. O software *Stepanizer Stereology Tool 1.0* foi utilizado para a quantificação do volume prostático.

A quantidade de mastócitos foi realizada em cinco animais por grupo experimental e os valores foram apresentados em células/mm<sup>2</sup>. Imagens aleatórias de 12 campos por grupo, foram capturadas usando a objetiva de 40x, com cada campo cobrindo uma área de 0,085 mm<sup>2</sup> [31]. A análise de glicogênio tecidual prostático foi realizada pela coloração de ácido periódico-Schiff (PAS), dez campos com aumento de 40x por animal foi utilizado para quantificação no software Image-J. As imagens obtidas foram fotografadas pelo microscópio Zeiss AxioCam ECR5s (Zeiss, Munich, Germany).

### *Imunohistoquímica*

Amostras prostáticas de cinco animais de cada grupo experimental foram utilizadas para as imunomarcações. De acordo com as características de cada antígeno, a

recuperação antigênica foi realizada por incubação dos cortes em tampão citrato, PH=6,0 em microondas ou por panela de pressão. Para o bloqueio da peroxidase endógena os cortes foram submetidos a solução de peróxido de hidrogênio ou metanol 3%. Posteriormente, o bloqueio proteico foi utilizado em solução bloqueadora com albumina soro bovino (BSA 3%,) diluído em TBS-T (1% Triton X-100, 100 mM of Tris, pH 7.4). Na etapa seguinte, as secções foram submetidas aos anticorpos primários específicos AR (clone n-20, Santa Cruz Biotechnology, 816), GR (clone m-20, Santa Cruz Biotechnology, 1004), Fas (clone x-20, Santa Cruz Biotechnology, 1024), IL-6 (clone M-19, Santa Cruz Biotechnology, 1265), TNF- $\alpha$  (clone N-19, Santa Cruz Biotechnology, 1350), NF- $\kappa$ B p65 (clone A, Santa Cruz Biotechnology, 109) e incubadas em câmara úmida durante a noite em geladeira. Posteriormente, após lavagem com tampão TBS-T, os cortes foram incubados com anticorpo secundário 1:200 anti-rabbit (IgG-HRP: sc-2030 conjugado), e anticorpo secundário anti-goat (IgG-HRP: sc-2354 conjugado) em temperatura ambiente, revelados com diaminobenzidina (DAB), contracolorados com hematoxilina de Harris, e avaliados no fotomicroscópio Zeiss Axiophoto. Os cortes prostáticos foram avaliados através do precipitado acastanhado de DAB, que indica a imunorreatividade dos anticorpos.

#### *Quantificação do imunoprecipitado*

A intensidade da imunomarcção dos antígenos BAX, BCL-2, Fas, NF- $\kappa$ B, IL-6 e TNF- $\alpha$  foram examinadas em 10 campos por animal/antígeno, sendo 5 animais por grupo, usando o software ImageJ (versão 1.50i). A marcação celular de AR e GR, foram quantificadas em 1000 células por animal, cinco animais por grupo, assim, o percentual para de células marcadas foi utilizado.

### *Análises estatísticas*

As análises estatísticas foram realizadas através do software *Sigma Plot 12.0*, e os dados foram considerados significativos quando  $p \leq 0,05$ , apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média, analisados com teste One Way ANOVA, com pós teste de Tukey, utilizados o software Graph Pism 6 para confecção dos gráficos.

## **Resultados**

### *Dados antropométricos e perfil metabólico*

A eficiência da HFD para induzir obesidade foi confirmada pelo aumento de peso em ambas linhagens. Os animais WT aumentaram o ganho de peso quando comparado aos animais nocaute PPAR- $\alpha$  (Tabela 1). O ganho de peso foi acompanhado pelo aumento do índice de tecido adiposo, colesterol e ácidos graxos livres (Tabela 1), porém os animais WT-HFT apresentaram maior redução de colesterol em relação aos animais do grupo KO-HFT. Não houve diferenças significativas entre o peso da próstata entre os grupos, todavia, o exercício físico foi eficiente na redução do ganho de peso corporal, colesterol, ácidos graxos livres e índice adiposo em ambas linhagens de animais (Tabela 1).

### *Análises Histológicas*

Nós investigamos o papel do PPAR $\alpha$  associado a HFD na morfologia prostática e observamos que os animais dos grupos WT apresentaram epitélio menos espesso, com invaginações acinares e estroma envolta dos ácinos (Fig. 2 A-E). Os animais KO apresentaram maior quantidade de estroma diferente dos grupos WT, e o epitélio mais espesso. Contudo animais WT e KO submetidos ao treinamento apresentaram redução do tamanho epitelial (Fig. 2 A-E). O volume epitelial do grupo WT-HFT foi significativamente menor quando comparado ao grupo SD e WT-HF (Fig. 2U). No

entanto, os animais KO apresentaram redução do volume do epitélio associado com a HFD comparado ao grupo KO-HFT e SD (Figura 2U). O volume do estroma não apresentou diferença significativa entre os grupos (Fig. 2V). O volume da luz dos ácinos prostáticos não apresentou diferenças significativas entre os grupos contudo camundongos KO HFT apresentaram maiores valores de luz (Figura 2X).

A quantificação de mastócitos localizados no estroma prostáticos demonstrou a diferença entre os camundongos selvagens e deficientes para PPAR $\alpha$ . Todos os grupos submetidos a HFD apresentaram aumento da quantidade de mastócitos comparados ao grupo SD (Figura 2W). Os animais KO-HF apresentaram melhores valores de mastócitos comparado a WT-HF (Fig. 2W). O grupo WT-HFT apresentou menores valores de mastócito total quando comparado ao grupo WT-HF (Fig. 2Y). A quantificação de glicogênio prostático, demonstrou que animais KO alimentados com HFD apresentaram menores valores de glicogênio citoplasmático comparado ao grupo SD (Fig. 2Y). O grupo KO-HF apresentou menores valores de glicogênio comparado a WT-HF (Fig. 2Y).

#### *Expressão dos receptores esteroides, pró e anti-apoptóticos*

A Fig. 3 demonstra a imunomarcagem de receptores de andrógeno na próstata de camundongos WT e KO. Os grupos WT-HF e KO-HF apresentaram maiores expressão de AR comparada ao grupo SD. O grupo WT\_HFT e KO-HFT reduziram a expressão de AR quando comparado a WT-HF e KO-HF respectivamente (Fig. 3P). A imunomarcagem do receptor de glicocorticoide na próstata foi maior nos grupos WT-HF e KO-HF comparado ao grupo SD, não havendo diferença entre WT e KO, contudo o treinamento físico reduziu a expressão de GR sem diferenças significativas (Fig. 3Q).

A expressão de BCL-2 foi reduzida nos grupos KO em relação aos grupos WT (Fig. 3AC). O grupo KO-HFT apresentou menores valores de BCL-2 quando comparado

ao grupo WT-HFT e SD (Fig. 3 AC). A imunomarcação da proteína BAX foram menos expressas nos grupos KO HF e HFT respectivamente em relação ao grupo WT-HF e HFT (Fig.3 AD).

#### *Influência do PPAR $\alpha$ associado a HFD e exercício físico na inflamação prostática*

O grupo WT-HFT reduziu a imunomarcação da citocina IL-6 na próstata comparado ao grupo WT-HF (Fig. 4P). O grupo KO-HF apresentou menores valores de IL-6 comparado ao grupo WT-HF (Fig. 4P). A expressão de IL-6 não apresentou diferenças significativas entre os grupos KO-HF e KO-HFT, mas apresentaram menores valores comparado ao grupo SD (Fig.4P). A Fig.4Q apresenta os valores de expressão de TNF- $\alpha$  na próstata de camundongos WT e KO. O grupo WT-HFT apresentou aumento na expressão de TNF- $\alpha$  quando comparado aos demais grupos (Fig. 4Q). O grupo KO-HFT reduziu a expressão de TNF- $\alpha$  comparado ao grupo KO-HF, mas não houve diferença significativa.

A expressão de NF- $\kappa$ B está demonstrado na Fig.4 k-O. A HFD aumentou os valores de NF- $\kappa$ B nos grupos WT-HF e KO-HF quando comparado aos demais grupos (Fig. 4R). O treinamento físico nos grupos WT-HFT e KO-HFT reduziram os valores de NF- $\kappa$ B comparado aos grupos WT-HF, KO-HF e SD, respectivamente (Fig. 4R).

#### **Discussão**

No presente estudo objetivamos entender a ação da dieta hiperlipídica e as consequências da ausência do fator de transcrição gênica PPAR $\alpha$  na próstata de camundongos submetidos ao treinamento físico aeróbio. Os principais achados deste estudo foram: 1) os animais KO reduziram o ganho de peso, índice adiposo, melhoras na morfologia prostática, porém aumentou os concentrações de ácidos graxos sanguíneos;

2) a dieta hiperlipídica aumentou o ganho de peso, colesterol, índice adiposo e a expressão de AR, GR, Fas e citocinas pró- inflamatórias em ambas linhagens; 3) o treinamento físico aeróbio reduziu o índice do tecido adiposo, os níveis de colesterol total, o peso corporal final dos animais bem como a expressão de AR, GR, IL-6, NF-kB e FAS nas linhagens WT e KO.

A obesidade é caracterizada por alterações metabólicas que englobam aumento de peso corporal, índice adiposo, dislipidemias e hiperglicemia [32]. No presente estudo a HFD foi suficiente para induzir a obesidade evidenciado consideravelmente no ganho de peso e índice adiposo comparado aos animais alimentados com dieta padrão. Nós observamos que PPAR $\alpha$  KO suprime o peso corporal, índice adiposo e ganho de peso em camundongos alimentado com HFD comparados aos WT. PPAR $\alpha$  é predominantemente expresso no fígado, onde desempenha um papel crucial no desenvolvimento das funções fisiológicas, assim como, na manutenção dos ácidos graxos e metabolismo de triglicerídeos [33], este fator de transcrição é supra regulado em condições de estresse e controla as expressões de genes necessários para a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos e redução de ácidos graxo sanguíneos [34]. Desta forma, a administração de agonistas de PPAR $\alpha$  aumentam os genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos, bem como modulam os níveis de glicose [35,36]. Camundongos KO apresentaram níveis reduzidos de glicogênio prostático em comparação aos grupos SD e WT. O metabolismo energético durante o exercício físico aeróbio é influenciado pela intensidade e frequência do treinamento físico. Nossos resultados demonstraram que o treinamento físico em esteira em camundongos WT e associado a PPAR $\alpha$  KO reduziu o ganho de peso e tecido adiposo e colesterol.

Dados do presente estudo sugerem que a dieta hiperlipídica pode ser considerada indutor de lesões prostáticas promovendo indução a hiperplasia prostática benigna e

demais lesões teciduais [37]. O aumento de estroma e espessura do epitélio está associado a alterações teciduais [1] acarretando diversos problemas na qualidade de vida [38,39]. Em nossos resultados observamos que os animais WT suplementados com HFD tiveram maiores porcentagens de estroma e epitélio em comparação com os animais KO. Refaier et al., [40] correlacionou baixos níveis de PPAR $\alpha$  com o crescimento celular prostáticos e redução de caspase 3 clivada. Consideramos desta forma, que o PPAR $\alpha$  pode regular processos biológicos que alteram a expressão de genes que promovem alterações histológicas.

O PPAR $\alpha$  pode ser regulado por glicocorticoides [41], insulina [42], TNF- $\alpha$  [43] e responsivo a andrógenos [44]. No presente estudo, foi possível observar que a HFD promoveu aumento dos receptores de AR e GR prostáticos tanto em camundongos WT quanto em KO. Mariano et al., [45] verificou o aumento da expressão de GR em respostas a HFD foi acompanhada pelo aumento de citocinas inflamatórias. O receptor de glicocorticoide aciona a expressão de proteína de ativação 1 (AP-1) e conseqüentemente o NF- $\kappa$ B, induzindo o aumento de genes relacionado com a proliferação celular e sobrevivência. Nossos resultados demonstram que os grupos WT-HF e KO HF apresentaram maior porcentagem de epitélio e estroma também apresentam maior expressão de BCL-2 e BAX reduzido relacionado com maior expressão de AR e GR. O mecanismo pelo qual o treinamento físico pode mediar atividades anti-androgênicas na próstata ainda é pouco discutido, contudo o exercício físico pode reduzir proliferação e aumentar a apoptose [27,28]. Nesta premissa, conseguimos dimensionar que os efeitos do exercício físico na próstata são independentes da ativação de PPAR $\alpha$ .

Para confirmar o envolvimento do exercício físico aeróbio na próstata verificamos os efeitos anti-inflamatórios relacionado com a ausência de PPAR $\alpha$ . A inflamação tecidual é morfológicamente evidenciada pela quantidade de mastócitos [46] e expressão

proteica de citocinas pró-inflamatórias [47]. Evidenciamos o aumento de mastócitos na próstata influenciado pela HFD nos animais WT, enfatizando o potencial inflamatório com aumento da expressão de NF- $\kappa$ B e IL-6. Tem sido mostrado que a ativação de PPAR $\alpha$  é um regulador da homeostase de lipídios e inibidor da inflamação [48]. Estudos verificam que concentrações de ácidos graxos e glicose elevadas ativam a via inflamatória ativada por NF- $\kappa$ B em monócitos aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias [49], contudo, o aumento expressivo de PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$  podem reduzir a atividade de NF- $\kappa$ B, sugerindo que processos inflamatórios mediados por NF- $\kappa$ B estão relacionados aos fatores de transcrição que regulam o metabolismo de lipídios [50,51]. A ausência de PPAR $\alpha$  na próstata reduziu a expressão de NF- $\kappa$ B comparado ao grupo WT-SD (Dados não mostrado) e a HFD potencializou o efeito inflamatório em camundongos WT e KO. Possivelmente a ausência de PPAR $\alpha$  promoveu o aumento de genes de PPAR $\gamma$ , sugerindo uma compensação do PPAR $\alpha$  deficiente nas células prostáticas. Batatinha et al., [52] verificou que a ausência de PPAR $\alpha$  no fígado de camundongos foi compensada pelo aumento da expressão PPAR $\gamma$ . Este aumento compensatório pode ser estimulado pelos ácidos graxos e fosfolipídios considerados ligantes fisiológicos de PPAR $\gamma$  [53].

A literatura relata mecanismos pela qual o exercício físico pode reduzir a inflamação [54–56]. Um fator de grande relevância é o aumento expressivo do coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PGC-1 $\alpha$ ), estimulando a biogênese mitocondrial após treinamento físico aeróbio [57]. O PGC-1 $\alpha$  é coativador de PPAR $\alpha$  e desta forma regulador da via inflamatória por reduzir a fosforilação de NF- $\kappa$ B [58]. Desta forma, o exercício físico reduz o estresse oxidativo e aumenta a expressão de PGC-1 $\alpha$  regulando o fator de transcrição via PPAR $\gamma$  em camundongos nocautes para PPAR $\alpha$  contribuindo para a redução expressiva de NF- $\kappa$ B e conseqüentemente IL-6 prostático. Esta discussão ressalta a complexidade da interação metabólica entre a

regulação molecular promovida pelo exercício físico e o aumento metabólico de genes lipolíticos e energéticos relacionado a HFD na próstata. Mais estudos necessitam ser empregados para evidenciar os possíveis mecanismo de adaptação molecular relacionado ao exercício físico e sua relevância clínica como potencial terapêutico na próstata.

## Referências

- [1] Tewari R, Rajender S, Natu SM, Dalela D, Goel A, Goel MM, et al. Diet, obesity, and prostate health: Are we missing the link. *J Androl* 2012;33:763–76. doi:10.2164/jandrol.111.015578.
- [2] Asle Mohammadi Zadeh M, Kargarfard M, Marandi SM, Habibi A. Diets along with interval training regimes improves inflammatory & anti-inflammatory condition in obesity with type 2 diabetes subjects. *J Diabetes Metab Disord* 2018;17:253–67. doi:10.1007/s40200-018-0368-0.
- [3] Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics. *Prim Care Clin Off Pract* 2016;43:121–35. doi:10.1016/J.POP.2015.10.001.
- [4] Chen W, Balland E, Cowley MA. Hypothalamic Insulin Resistance in Obesity: Effects on Glucose Homeostasis. *Neuroendocrinology* 2017;104:364–81. doi:10.1159/000455865.
- [5] Deng X-L, Liu Z, Wang C, Li Y, Cai Z. Insulin resistance in ischemic stroke. *Metab Brain Dis* 2017;32:1323–34. doi:10.1007/s11011-017-0050-0.
- [6] Vikram A, Jena G, Ramarao P. Insulin-resistance and benign prostatic hyperplasia: The connection. *Eur J Pharmacol* 2010;641:75–81. doi:10.1016/j.ejphar.2010.05.042.
- [7] Gacci M, Vignozzi L, Sebastianelli A, Salvi M, Giannessi C, De Nunzio C, et al. Metabolic syndrome and lower urinary tract symptoms: the role of inflammation. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2013;16:101–6. doi:10.1038/pcan.2012.44.
- [8] Yoo S, Oh S, Park J, Cho SY, Cho MC, Son H, et al. Effects of metabolic syndrome on the prevalence of prostate cancer: historical cohort study using the national health insurance service database. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019;1–6. doi:10.1007/s00432-019-02842-1.
- [9] Georgiadi A, Kersten S. Mechanisms of gene regulation by fatty acids. *Adv Nutr* 2012;3:127–34. doi:10.3945/an.111.001602.
- [10] Suzuki Y, Yokoyama O, Okada K. [Overview of diagnosis of prostate cancer]. *Nihon Rinsho* 2002;60 Suppl 1:95–9.
- [11] Cariello M, Ducheix S, Maqdasy S, Baron S, Moschetta A, Lobaccaro J-MA. LXRs, SHP, and FXR in Prostate Cancer: Enemies or *Ménage à Quatre* With AR? *Nucl Recept Signal* 2018;15:155076291880107. doi:10.1177/1550762918801070.

- [12] Fujita K, Hayashi T, Matsushita M, Uemura M, Nonomura N. Obesity, Inflammation, and Prostate Cancer. *J Clin Med* 2019;8:201. doi:10.3390/jcm8020201.
- [13] Cano AM, Murphy ES, Lupfer G. Delay discounting predicts binge-eating in Wistar rats. *Behav Processes* 2016;132:1–4. doi:10.1016/j.beproc.2016.08.011.
- [14] Souza CO, Teixeira AA, Biondo LA, Silveira LS, Calder PC, Rosa Neto JC. Palmitoleic acid reduces the inflammation in LPS-stimulated macrophages by inhibition of NFκB, independently of PPARs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2017;44:566–75. doi:10.1111/1440-1681.12736.
- [15] Silveira LS, Batatinha HAP, Castoldi A, Câmara NOS, Festuccia WT, Souza CO, et al. Exercise rescues the immune response fine-tuned impaired by peroxisome proliferator-activated receptors  $\gamma$  deletion in macrophages. *J Cell Physiol* 2019;234:5241–51. doi:10.1002/jcp.27333.
- [16] Jiang M, Fernandez S, Jerome WG, He Y, Yu X, Cai H, et al. Disruption of PPAR $\gamma$  signaling results in mouse prostatic intraepithelial neoplasia involving active autophagy. *Cell Death Differ* 2010;17:469–81. doi:10.1038/cdd.2009.148.
- [17] Zhang Y, Cui Y, Wang X-L, Shang X, Qi Z-G, Xue J, et al. PPAR $\alpha/\gamma$  agonists and antagonists differently affect hepatic lipid metabolism, oxidative stress and inflammatory cytokine production in steatohepatic rats. *Cytokine* 2015;75:127–35. doi:10.1016/J.CYTO.2015.05.031.
- [18] Hennuyer N, Duplan I, Paquet C, Vanhoutte J, Woittrain E, Touche V, et al. The novel selective PPAR $\alpha$  modulator (SPPARM $\alpha$ ) pemafibrate improves dyslipidemia, enhances reverse cholesterol transport and decreases inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2016;249:200–8. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.03.003.
- [19] Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPAR $\alpha$  action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2015;62:720–33. doi:10.1016/J.JHEP.2014.10.039.
- [20] Nguyen DP, Li J, Tewari AK. Inflammation and prostate cancer: The role of interleukin 6 (IL-6). *BJU Int* 2014;113:986–92. doi:10.1111/bju.12452.
- [21] Cui X, Yan H, Ou T-W, Jia C-S, Wang Q, Xu J-J. Genetic Variations in Inflammatory Response Genes and Their Association with the Risk of Prostate Cancer. *Biomed Res Int* 2015;2015:1–7. doi:10.1155/2015/674039.
- [22] Marzo AM De, Platz EA, Sutcliffe S, Xu J, Grönberg H, Drake CG, et al. Inflammation in prostate carcinogenesis 2007;7. doi:10.1038/nrc2090.
- [23] Gueritat J, Lefevre-Orfila L, Vincent S, Cretual A, Ravanat J-L, Gratas-Delamarche A, et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. *Free Radic Biol Med* 2014;77:95–105.

- doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2014.09.009.
- [24] Pernar CH, Ebot EM, Pettersson A, Graff RE, Giunchi F, Ahearn TU, et al. A Prospective Study of the Association between Physical Activity and Risk of Prostate Cancer Defined by Clinical Features and TMPRSS2:ERG. *Eur Urol* 2018. doi:10.1016/J.EURURO.2018.09.041.
- [25] Santa Mina D, Connor MK, Alibhai SMH, Toren P, Guglietti C, Matthew AG, et al. Exercise effects on adipokines and the IGF axis in men with prostate cancer treated with androgen deprivation: A randomized study. *Can Urol Assoc J* 2013;7:E692-8. doi:10.5489/cuaj.235.
- [26] Silveira LS, Batatinha HAP, Castoldi A, Câmara NOS, Festuccia WT, Souza CO, et al. Exercise rescues the immune response fine-tuned impaired by peroxisome proliferator-activated receptors  $\gamma$  deletion in macrophages. *J Cell Physiol* 2018. doi:10.1002/jcp.27333.
- [27] Teixeira GR, Fávoro WJ, Pinheiro PFF, Chuffa LGA, Amorim JPA, Mendes LO, et al. Physical exercise on the rat ventral prostate: Steroid hormone receptors, apoptosis and cell proliferation. *Scand J Med Sci Sports* 2012;22:e86–92. doi:10.1111/j.1600-0838.2012.01501.x.
- [28] Baptista DB, Dutra de Santana LF, Veras ASC, Alves de Menezes V, Dos Santos NJ, Papoti M, et al. Effect of concurrent training and supplementation with  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) on the prostate: Alterations in the androgen receptor and inflammation. *Int J Morphol* 2018;36. doi:10.4067/S0717-95022018000100074.
- [29] Bacurau AVN, Belmonte MA, Navarro F, Moraes MR, Pontes FL, Pesquero JL, et al. Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor bearing rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007;232:1289–99. doi:10.3181/0704-RM-93.
- [30] WEIBEL ER. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 1963;12:131–55.
- [31] Mendes LO, Scarano WR, Rochel-Maia SS, Fioruci-Fontaneli BA, Chuffa LGA, Martinez FE. Testosterone Therapy Differently Regulates the Anti- and Pro-Inflammatory Cytokines in the Plasma and Prostate of Rats Submitted to Chronic Ethanol Consumption (UChB). *Am J Reprod Immunol* 2014;72:317–25. doi:10.1111/aji.12268.
- [32] Reed DR. Recent Advances in Fatty Acid Perception and Genetics Recent Advances in Fatty Acid 2015. doi:10.3945/an.114.007005.
- [33] Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Prog Lipid Res* 2014;53:124–44. doi:10.1016/j.plipres.2013.12.001.
- [34] Qin S, Yin J, Huang K. Free Fatty Acids Increase Intracellular Lipid Accumulation and Oxidative Stress by Modulating PPAR $\alpha$  and SREBP-1c in L-02 Cells. *Lipids* 2016;51:797–805. doi:10.1007/s11745-016-4160-y.

- [35] Stebbins KJ, Broadhead AR, Cabrera G, Correa LD, Messmer D, Bunday R, et al. In vitro and in vivo pharmacology of NXT629, a novel and selective PPAR $\alpha$  antagonist. *Eur J Pharmacol* 2017;809:130–40. doi:10.1016/j.ejphar.2017.05.008.
- [36] Silveira LS, Pimentel GD, Souza CO, Biondo LA, Teixeira AAS, Lima EA, et al. Effect of an acute moderate-exercise session on metabolic and inflammatory profile of PPAR- $\alpha$  knockout mice. *Cell Biochem Funct* 2017;35:510–7. doi:10.1002/cbf.3308.
- [37] Xie H, Li L, Zhu G, Dang Q, Ma Z, He D, et al. Infiltrated pre-adipocytes increase prostate cancer metastasis via modulation of the miR-301a/androgen receptor (AR)/TGF-beta1/Smad/MMP9 signals. *Oncotarget* 2015;6:12326–39. doi:10.18632/oncotarget.3619.
- [38] Bushman WA, Jerde TJ. The role of prostate inflammation and fibrosis in lower urinary tract symptoms. *Am J Physiol Physiol* 2016;311:F817–21. doi:10.1152/ajprenal.00602.2015.
- [39] Kim SJ, Al Hussein Alawamlh O, Chughtai B, Lee RK. Lower Urinary Tract Symptoms Following Transurethral Resection of Prostate. *Curr Urol Rep* 2018;19:85. doi:10.1007/s11934-018-0838-4.
- [40] Refaie MMM, Rifaai RA, Zenhom NM. Role of PPAR- $\alpha$  agonist fenofibrate in the treatment of induced benign prostatic hyperplasia with dysplastic changes in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2018;32:617–26. doi:10.1111/fcp.12384.
- [41] Konstandi M, Shah YM, Matsubara T, Gonzalez FJ. Role of PPAR $\alpha$  and HNF4 $\alpha$  in Stress-Mediated Alterations in Lipid Homeostasis. *PLoS One* 2013;8. doi:10.1371/journal.pone.0070675.
- [42] Shalev A, C A Siegrist-Kaiser, Yen PM, Wahli W, Burger AG, Chin WW, et al. Received : *Endocrinology* 1996;49653:4499–502. doi:10.1210/endo.137.10.8828512.
- [43] Beier K, Völkl A, Fahimi D. TNF- $\alpha$  downregulates the peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$  and the mRNAs encoding peroxisomal proteins in rat liver. *FEBS Lett* 1997;412:385–7. doi:10.1016/S0014-5793(97)00805-3.
- [44] Collett GP, Betts AM, Johnson MI, Collett GP, Betts AM, Johnson MI, et al. Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\alpha$  Is an Androgen-responsive Gene in Human Prostate and Is Highly Expressed in Prostatic Adenocarcinoma Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\alpha$  Is an Androgen- responsive Gene in Human Prostate and Is Highly Expressed in Prostatic Adenocarcinoma. *Endocrinology* 2000;3241–8.
- [45] Marino JS, Stechschulte LA, Stec DE, Nestor-Kalinoski A, Coleman S, Hinds TD. Glucocorticoid receptor  $\beta$  induces hepatic steatosis by augmenting inflammation and inhibition of the Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR)  $\alpha$ . *J Biol Chem* 2016;291:25776–88. doi:10.1074/jbc.M116.752311.
- [46] Ma Z, Yue L, Xu Z, Zeng S, Ma Y, Li Z, et al. The effect of mast cells on the biological characteristics of prostate cancer cells. *Cent J Immunol* 2018;43:1–8.

doi:10.5114/ceji.2018.74867.

- [47] Ningyan G, Xu Y, Hongfei S, Jingjing C, Min C. The Role of Macrophage Migration Inhibitory Factor in Mast Cell-Stimulated Fibroblast Proliferation and Collagen Production. *PLoS One* 2015;10:e0122482. doi:10.1371/journal.pone.0122482.
- [48] Ban JO, Oh JH, Son SM, Won D, Song HS, Han SB, et al. prostate cancer cell growth through inactivation of NF  $\kappa$  B via suppression of GSK-3  $\beta$  expression and desioscience on not distribute and desioscience on not distribute 2011;12:288–96. doi:10.4161/cbt.12.4.15961.
- [49] Dickinson S, Hancock DP, Petocz P, Ceriello A, Brand-Miller and J. High-glycemic index carbohydrate increases nuclear factor-kappaB activation in mononuclear cells of young, lean healthy subjects 1-3. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1188–93.
- [50] Kersten S, Stienstra R. The role and regulation of the peroxisome proliferator activated receptor alpha in human liver. *Biochimie* 2017;136:75–84. doi:10.1016/j.biochi.2016.12.019.
- [51] Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart J, Staels B. Review series Sorting out the roles of PPAR  $\alpha$  in energy metabolism and vascular homeostasis 2006;116:571–80. doi:10.1172/JCI27989.symptoms.
- [52] Batatinha HAP, Lima EA, Teixeira AAS, Souza CO, Biondo LA, Silveira LS, et al. Association Between Aerobic Exercise and Rosiglitazone Avoided the NAFLD and Liver Inflammation Exacerbated in PPAR- $\alpha$  Knockout Mice. *J Cell Physiol* 2017;232:1008–19. doi:10.1002/jcp.25440.
- [53] Colasante C, Pilatz A, Karnati S, Oruqaj G, Baumgart-Vogt E, Janga H, et al. PPAR $\alpha$ -mediated peroxisome induction compensates PPAR $\gamma$ -deficiency in bronchiolar club cells. *PLoS One* 2018;13:e0203466. doi:10.1371/journal.pone.0203466.
- [54] Hangelbroek RWJ, Knuiman P, Tieland M, de Groot LCPGM. Attenuated strength gains during prolonged resistance exercise training in older adults with high inflammatory status. *Exp Gerontol* 2018. doi:10.1016/j.exger.2018.02.008.
- [55] Petersen J, Thorborg K, Nielsen MB, Budtz-Jørgensen E, Hölmich P. Preventive Effect of Eccentric Training on Acute Hamstring Injuries in Men's Soccer. *Am J Sports Med* 2011;39:2296–303. doi:10.1177/0363546511419277.
- [56] Petersen AM, Plomgaard P, Fischer CP, Ibfelt T, Pedersen BK, Van Hall G. Acute moderate elevation of TNF- $\alpha$  does not affect systemic and skeletal muscle protein turnover in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:294–9. doi:10.1210/jc.2008-1110.
- [57] Vaughan RA, Garcia-Smith R, Trujillo KA, Bisoffi M. Tumor necrosis factor alpha increases aerobic glycolysis and reduces oxidative metabolism in prostate epithelial cells. *Prostate* 2013;73:1538–46. doi:10.1002/pros.22703.
- [58] Ost M, Coleman V, Kasch J, Klaus S. Regulation of myokine expression: Role of exercise

and cellular stress. *Free Radic Biol Med* 2016;98:78–89.  
doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.018.

## Tabelas

Tabela 1. Peso corporal, peso dos tecidos, níveis séricos de triglicerídeos, colesterol e ácido graxos livres de camundongos WT e PPAR $\alpha$  (KO) com consumo de dieta padrão e dieta hiperlipídica.

	Camundongos WT			Camundongos PPAR $\alpha$ KO	
	SD*	HF <sup>†</sup>	HFT <sup>‡</sup>	HF•	HFT <sup>‡</sup>
Peso inicial (g)	23.35±1.82	24±0.94	23.83±1.23	25.59±1.67	24.08±1.83
Peso final (g)	29.78±2.67	41.90±4.98*	33.42±3.42 <sup>†</sup>	34.46±4.51* <sup>†</sup>	29.05±3.69•
Ganho de peso (g)	6.1±2,0	17.4±2,9*	10.33±2,8	8,87±3,0 <sup>†</sup>	5,1±2,6•
Índice adiposo (g)	1.76±0.68	4.84±1.55*	3.24±0.71**	2.36±0.95* <sup>†</sup>	1.71±1,0•
Tecido adiposo marrom (g)	0.004±0.001	0.004±0.0007	0.004±0.0008	0.003±0.0006 <sup>†</sup>	0.003±0.0005
Colesterol (mg/dl)	158.8±15.58	261.1±23.43*	212.1±19.12 <sup>†</sup>	222.8±31.65*	216.42.90
Triglicerídeo (mg/dl)	80.22±19.10	92.96±23.33	95.56±31.36	79.23±21.70	116.9±34.14•
Ácido graxo livre (FFA) (mg/dl)	1.14±0.20	1.27±0.18	1.19±0.11 <sup>‡</sup>	1.38±0.25	1.92±0.30*•
Peso da Próstata (g)	0,026±0,005	0.04±0.01	0.043±0.01	0.05±0.007	0.041±0.006

Dados apresentados em média± desvio padrão da média, \*p<0,05 versus WT SD; <sup>†</sup> p<0,05 versus WT HF; <sup>‡</sup>p<0,05 versus WT HFT; • p<0,05 versus HFKO; <sup>‡</sup> p<0,05 versus HFT Ko.

## Legendas

**Figura 1:** A) Design dos grupos experimental: WT-SD, WT-HF, WT-HFT, KO-HF e KO-HFT. B) Delineamento experimental do protocolo de dieta hiperlipídica e treinamento físico aeróbico

**Figura 2:** Análise histopatológicas da Próstata de camundongos WT e KO submetidos a HFD e treinamento físico aeróbico. Coloração de Hematoxilina & Eosina (A-E), Tricômico de Masson (F-J), Azul de Toluidina (K-O) e ácido periódico-Schiff (P-T) para análises morfológicas da próstata ventral de camundongos selvagens e KO PPAR $\alpha$  submetidos ao treinamento físico aeróbico e a dieta hiperlipídica. Barra=20 $\mu$ m, resolução de 40x. Gráficos (U), (V) e (X) referente a análise de volume prostático pela técnica de Weibel; (W) referente a quantificação de mastócitos, (Y) quantificação de glicogênio prostático. A linha tracejada representa os animais controles alimentados com dieta balanceada – grupos SD. Dados expressos em média $\pm$ SD, \*P< 0,049, e \*\*P< 0,003, e comparado ao grupo controle #P< 0,026, e ##P< 0,009 (one-way ANOVA seguido por Tukey).

**Figura 3:** Imunohistoquímica da próstata ventral de camundongos WT e KO PPAR $\alpha$  submetidos ao treinamento físico aeróbico e a dieta hiperlipídica sob a expressão de AR-receptor de andrógeno (A-E), e GR- receptor de glicocorticoide (F-J). Gráficos referente a expressão de AR (A) e GR (B). Barra=20 $\mu$ m, resolução de 40x. A linha tracejada representa os animais controles alimentados com dieta balanceada. As diferenças significativas entre os grupos HF e HFT tanto WT como KO. \*\*P < 0.0028, e comparado ao grupo controle - SD #P< 0,009 (one-way ANOVA seguido por Tukey).

**Figura 4:** Imunohistoquímica da próstata ventral de camundongos selvagens e KO PPAR $\alpha$  submetidos ao treinamento físico aeróbico e a dieta hiperlipídica sob a expressão de IL-6 (A-E), TNF- $\alpha$  (F-J) NF- $\kappa$ B (K- O). Gráficos referente a expressão de IL-6 (P) e TNF-  $\alpha$  (Q) e NF- $\kappa$ B (R). Barra=20 $\mu$ m, resolução de 40x. A linha tracejada representa os animais controles alimentados com dieta balanceada. As diferenças significativas entre os grupos HF e HFT tanto WT como KO. \*\*P < 0.28, e comparado ao grupo controle #P< 0,009 (one-way ANOVA seguido por Tukey).

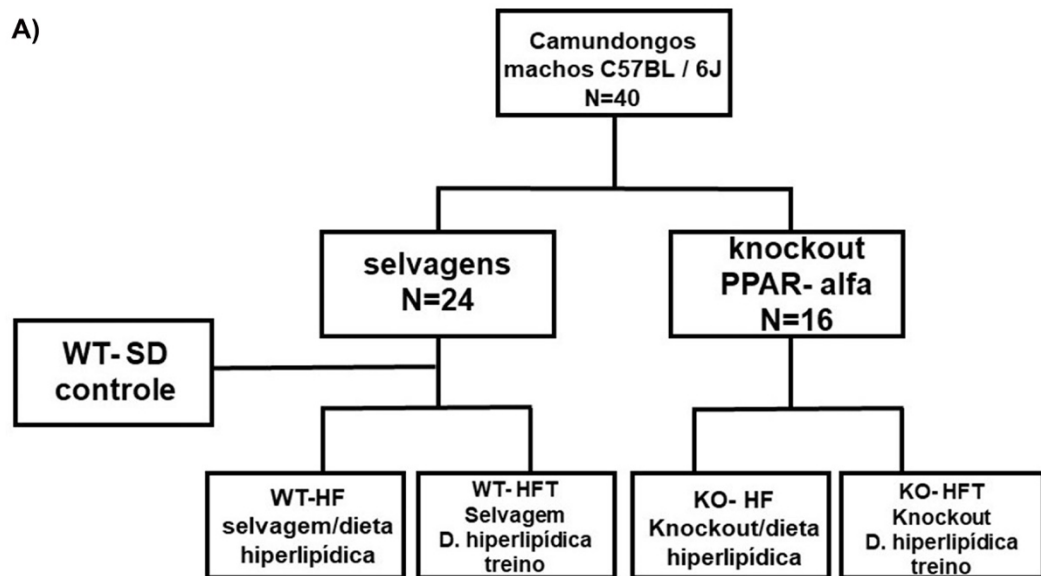


FIGURA 1

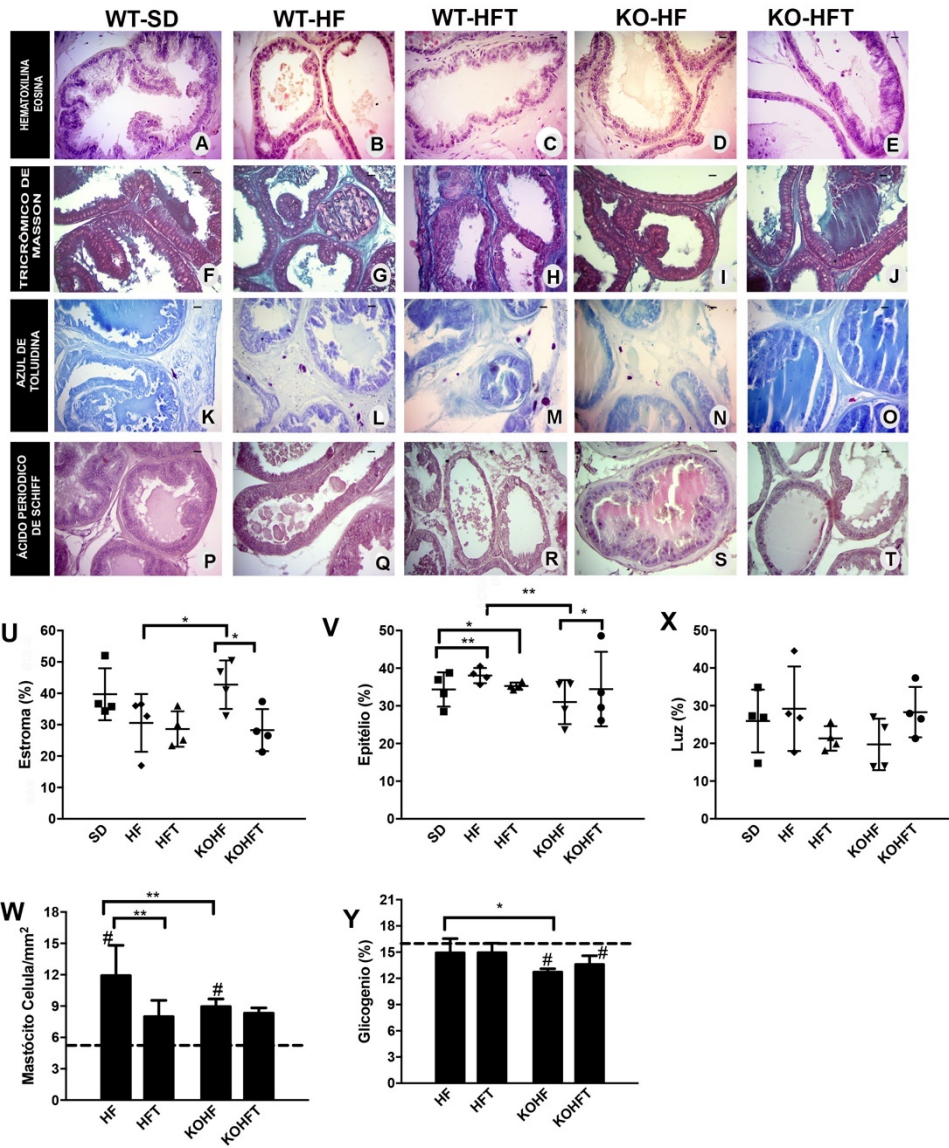


FIGURE 02

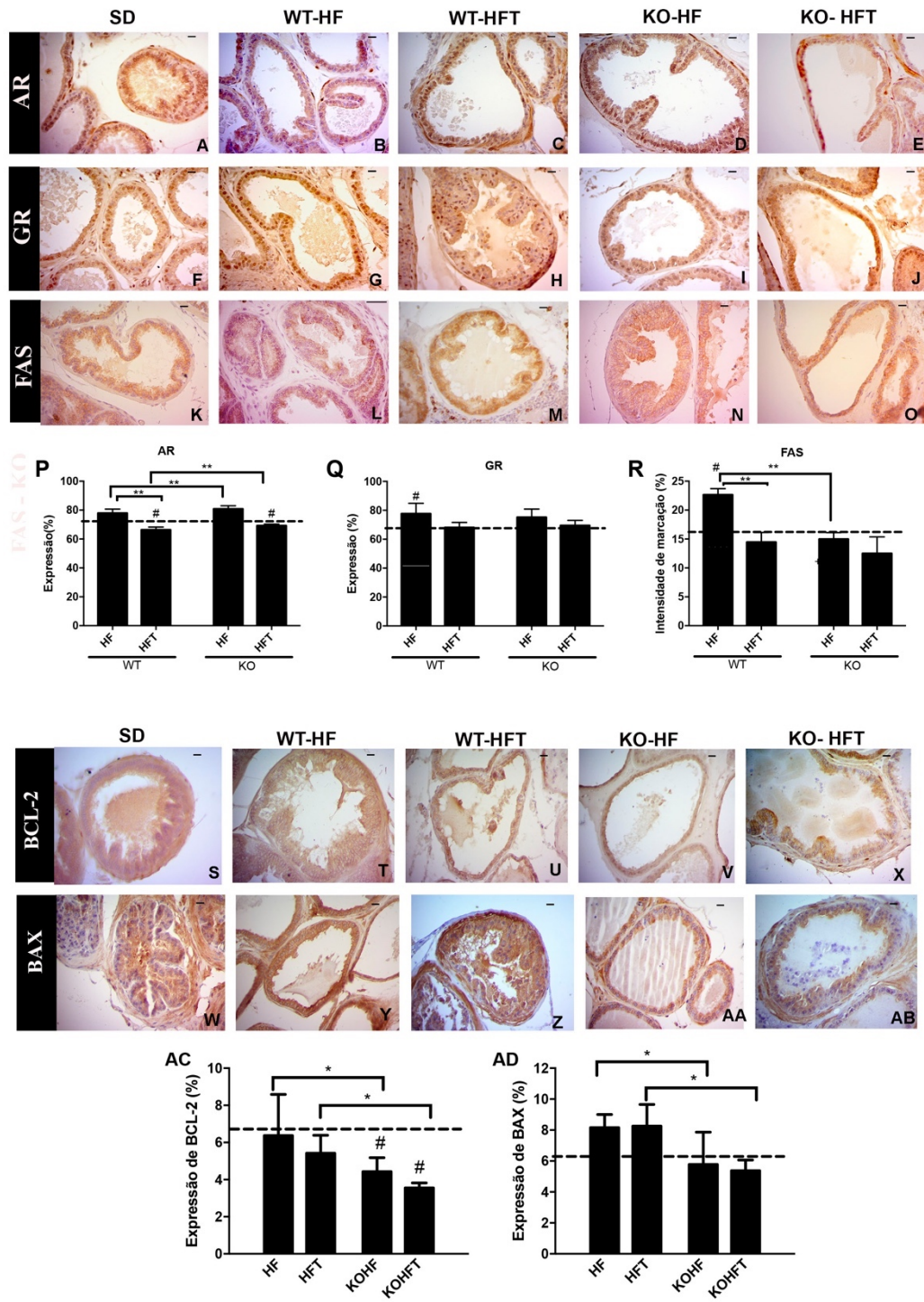


FIGURE 3

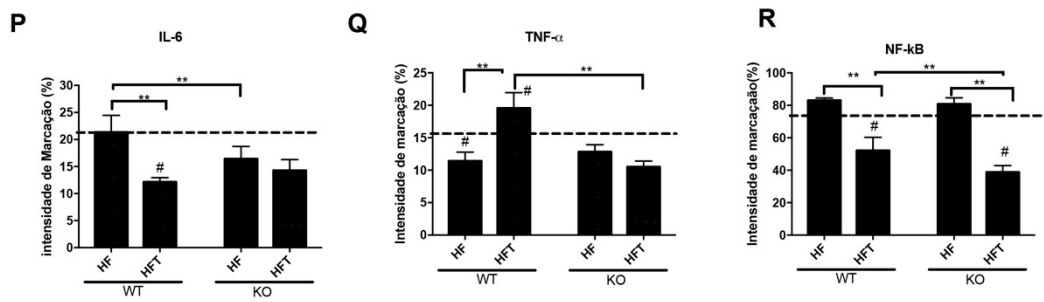
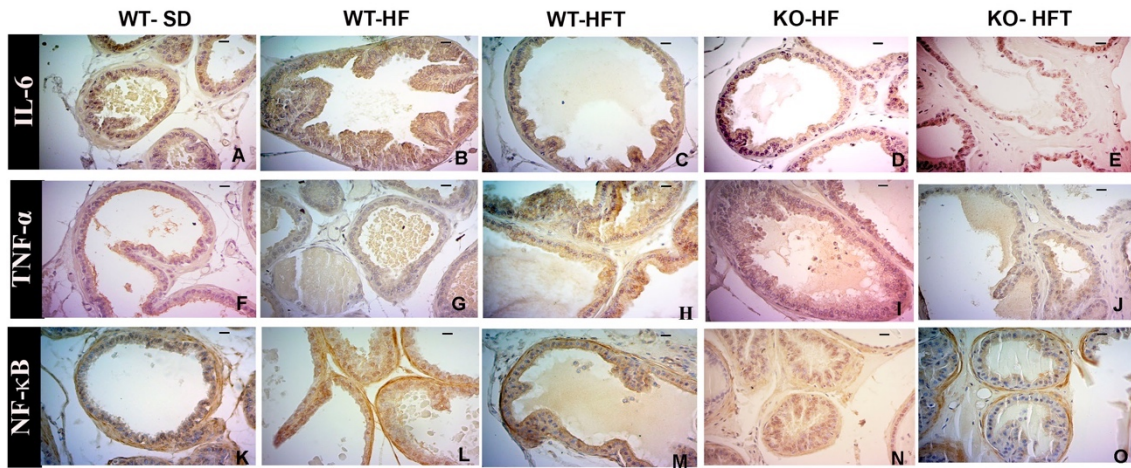


FIGURE 4