

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
tese será disponibilizado somente  
a partir de 22/10/2021.

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE**

**(Biodinâmica da Motricidade Humana)**

---

**CAROLINA CABRAL SANTOS**

**PAPEL DO TOLL LIKE RECEPTOR 4 (TLR-4) NA RESPOSTA LIPOLÍTICA  
MEDIADA PELO EXERCÍCIO EXAUSTIVO AGUDO**

Presidente Prudente – SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Campus de Presidente Prudente

CAROLINA CABRAL SANTOS

**PAPEL DO TOLL LIKE RECEPTOR 4 (TLR-4) NA RESPOSTA LIPOLÍTICA  
MEDIADA PELO EXERCÍCIO EXAUSTIVO AGUDO**

Tese apresentada ao FCT- Universidade Estadual Paulista Campus de Presidente Prudente, para Defesa Pública de Doutorado em Ciências da Motricidade, área Biodinâmica da Motricidade Humana e linha de pesquisa em Fisiologia Endócrino-Metabólica e Exercício.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Santos de Lira

Co-orientador: Prof Dr José Cesar Rosa Neto

Presidente Prudente – SP

2021

C117p

Cabral-Santos, Carolina

Papel do Toll-like Receptor 4 (TLR-4) na resposta lipolítica mediada pelo exercício exaustivo agudo / Carolina Cabral-Santos. -- Presidente Prudente, 2021

64 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente

Orientador: Fabio Santos Lira

Coorientador: Jose Cesar Rosa Neto

1. Toll like receptor 4. 2. Exercícios Físicos. 3. Inflamação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PAPEL DO TOLL LIKE RECEPTOR 4 (TLR-4) NA RESPOSTA LIPOLÍTICA MEDIADA PELO EXERCÍCIO EXAUSTIVO AGUDO

AUTORA: CAROLINA CABRAL SANTOS

ORIENTADOR: FÁBIO SANTOS DE LIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE, área: Biodinâmica da Motricidade Humana pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FÁBIO SANTOS DE LIRA (Participação Virtual)  
Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente

Prof. Dr. ADELINO SANCHEZ RAMOS DA SILVA (Participação Virtual) [VIDEOCONFERÊNCIA](#)  
Escola de Educação Física e Esporte / Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Prof. Dr. RONALDO VAGNER THOMATIELI DOS SANTOS (Participação Virtual) [VIDEOCONFERÊNCIA](#)  
Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Biociências - Baixada Santista - Santos/SP

Profa. Dra. PATRÍCIA CHIMIN PERANDINI (Participação Virtual) [VIDEOCONFERÊNCIA](#)  
Departamento de Fundamentos da Educação Física / Universidade Estadual de Londrina Profa.

Dra. LILA MISSAE OYAMA (Participação Virtual) [VIDEOCONFERÊNCIA](#)  
Departamento de Fisiologia / Universidade Federal de São Paulo - SP

Presidente Prudente, 25 de junho de 2021

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares e amigos pelo incentivo e compreensão.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Santos de Lira e Prof. Dr. José César Rosa Neto, que me concederam a oportunidade de ampliar a minha formação acadêmica, me auxiliando no processo desde a elaboração até a execução deste estudo.

Aos doutorandos, mestrandos e ICs membros do LAFICE (FCT-UNESP) e do Laboratório de Imunometabolismo (ICB-USP), que participaram de forma direta ou indiretamente, pela disposição e ajuda nas coletas de dados, análises e demais processos que propiciaram a realização desse estudo.

Agradeço a todo apoio prestado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) sob o Processo nº 2015/26148-0, para o desenvolvimento dessa pesquisa e pela bolsa de estudos.

### **Epígrafe**

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais  
voltará a seu tamanho original” - Albert Einstein

## RESUMO

O exercício exaustivo, realizado de maneira contínua em intensidade moderada, pode acometer em elevação nas concentrações de ácidos graxos livres, principalmente mediados pela resposta neuroendócrina. Concomitante a esta condição, foi postulado que a endotoxemia favorece a ativação da resposta inflamatória via receptores do tipo Toll-like receptor 4 (TLR-4) em diferentes tipos celulares, favorecendo a produção de citocinas como a Interleucina 6 (IL-6) e Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Adicionalmente, especula-se que a ativação do TLR-4 durante exercício exaustivo pode favorecer o processo de lipólise no tecido adiposo aumentando assim a disponibilidade de ácidos graxos circulantes, no entanto, essa hipótese nunca foi testada. Frente a esta questão, o objetivo do presente projeto foi verificar a relação do TLR-4 e o processo de lipólise induzido pelo exercício exaustivo. Foram utilizadas duas linhagens de animais: Wild Type C57BL/6J e TLR-4 nocaute subdivididos em 4 grupos (n=8 por grupo), quais sejam: 1- grupo controle não exercitado (Rest); 2- grupo exercício exaustivo com eutanásia imediatamente após exercício (0h); 3- exercício exaustivo 2h após exercício (2h); 4- exercício exaustivo 6h após exercício (6h). A sessão de exercício consistiu de 50 minutos de corrida em esteira rolante a 60% da Velocidade Máxima, imediatamente seguida de incremento de 1m/min até a exaustão voluntária. Foram avaliados o perfil metabólico (concentrações de glicose, lactato e ácidos graxos livres) e inflamatório dos tecidos adiposos mesentérico e Retroperitoneal) para determinar o papel do TLR-4. O grupo Wild-Type apresentou uma diminuição nas concentrações de ácidos graxos livres circulantes 6h após o exercício ( $p=0,029$ ;  $\eta^2=0,136$ ) que não foi observado no grupo TLR-4 nocaute. O grupo TLR-4 apresentou valores elevados no conteúdo de triacilglicerol muscular imediatamente após o exercício ( $p=0,0001$ ;  $\eta^2=0,370$ ), com decaimento contínuo até 6h ( $p=0,040$ ;  $\eta^2=0,142$ ). Além disso, o grupo TLR-4 nocaute não apresentou elevação nas concentrações de IL-10 após o exercício quando comparado com o grupo Wild-Type ( $p=0,002$ ) no depósito mesentérico. Tomados em conjunto, nossos dados demonstram importante participação do TLR-4 sobre a utilização do substrato energético. Além disso, observou-se uma possível participação do TLR-4 atuando na liberação aguda das citocinas TNF- $\alpha$  e IL-10. **Palavras chaves:** Toll-like receptor 4, exercício, metabolismo, inflamação, fatores transcricionais.



### Abstract

#### **Role of Toll Like Receptor 4 in acute exhaustive exercise-mediated lipolytic response.**

The exhaustive exercise, carried out at moderate intensity, can affect elevations in free fatty acid concentrations, mainly mediated by the neuroendocrine response. Concomitant to this condition, it was postulated that endotoxemia favor the activation of the inflammatory response via Toll-Like Receptors (TLR), specifically TLR-4, in different cell types, favoring the production of cytokines such as interleukin 6 (IL-6) and Tumoral necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ). Additionally, it is speculated that the activation of TLR-4 during exhaustive exercise may favor the lipolysis process in adipose tissue thus increasing the availability of circulating fatty acids, however, this hypothesis has never been tested. In view of this, the objective of the present project will be to verify the relationship of TLR-4 and the process of lipolysis induced by the exhaustive exercise. To do this, the project will use two animal strains: C57BL/6J and TLR-4 knockout animal. For each animal lineage 4 subgroups will be formed, containing 8 animals in each one, namely: 1- sedentary control group (Rest); 2- exhaustive exercise group with euthanasia immediately after exercise (0h); 3- exhaustive exercise 2h after exercise (2h); 4- exhaustive exercise 6h after exercise (6h). The metabolic profile (glucose, lactate and free fatty acid concentrations) and inflammatory activity, as well as activity of lipolytic enzymes in the mesenteric and retroperitoneal adipose tissue, will be evaluated to determine the role of TLR-4. Saline group showed a decreased circulating free fatty acid concentration 6h after exercise ( $p=0.029$ ;  $\eta^2=0.136$ ) that was not observed in the TLR-4 knockout group. The TLR-4 group showed high values in muscle-triacylglycerol content immediately after exercise ( $p=0.0001$ ;  $\eta^2=0.370$ ), and that continuously decay until 6h ( $p=0.040$ ;  $\eta^2=0.142$ ). Furthermore, the TLR-4 knockout group showed no increases in IL-10 levels after exercise when compared to Saline group ( $p=0.002$ ) in the mesenteric deposit. In summary, our data demonstrate an important role of TLR-4 on substrate preferences. Furthermore, it was observed a possible participation of TLR-4 in the acute release role of the cytokines TNF- $\alpha$  and IL-10. **Keywords:** Toll-like receptor 4, exercise, metabolism, inflammation, transcriptional factors.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Lipólise do tecido adiposo.....	21
<b>Figura 2.</b> Concentrações de citocinas e liberação de glicerol PPAR- $\alpha$ .....	24
<b>Figura 3.</b> Desenho experimental .....	31
<b>Figura 4.</b> Histologia.....	38
<b>Figura 5.</b> Efeito da deleção do TLR-4 sobre as concentrações sanguíneas de lactato, glicose, triacilglicerol e ácidos graxos livres de animais Wild Type e TLR-4 knockout após exercício exaustivo agudo.....	39
<b>Figura 6.</b> Conteúdo de triacilglicerol no músculo gastrocnêmio após exercício exaustivo agudo.....	40
<b>Figura 7.</b> Dosagem da enzima lactato desidrogenase após exercício exaustivo agudo.....	41
<b>Figura 8.</b> Conteúdo de glicogênio do músculo sóleo e do fígado em camundongos após exercício exaustivo.....	42
<b>Figura 9.</b> Ensaio de lipólise basal .....	42
<b>Figura 10.</b> Efeito da deleção do TLR-4 sobre as concentrações de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 de animais Wild Type e TLR-4 nocaute após exercício exaustivo agudo.....	44
<b>Figura 11.</b> Figura esquemática das diferentes vias com participação na lipólise durante o exercício exaustivo .....	46
<b>Figura 12.</b> Concentrações sanguíneas de lactato, glicose, triacilglicerol e ácidos graxos livres de animais Wild Type tratados com beta-bloqueador adrenérgico (10mg/kg de peso	

de Propranolol) após exercício exaustivo agudo.....62

**Figura 13.** Concentrações de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 de animais Wild Type tratados com beta-bloqueador adrenérgico (10mg/kg de peso de Propranolol) após exercício exaustivo agudo.....63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Parâmetros de composição corporal e de desempenho no exercício exaustivo das amostras.....	36
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros de composição corporal e de desempenho no exercício exaustivo do grupo Propranolol.....	60

**LISTA DE ABREVIações**

<b>AGL</b>	Ácidos graxos livres
<b>AMPK</b>	Proteína quinase ativada por AMP
<b>ATGL</b>	Lipase de triacilglicerol do adipócito
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>EROS</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>GLUT-4</b>	Transportador de glicose 4
<b>HSL</b>	Lipase hormônio sensível
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 beta
<b>IRS-1</b>	Substrato do receptor de insulina 1
<b>JNK</b>	Enzima c-Jun N-terminal quinase
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>LDH</b>	Lactato Desidrogenase
<b>LPL</b>	Enzima lipase de lipoproteína
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeos
<b>MGL</b>	Lipase Monoacilglicerol
<b>MEAT</b>	Tecido adiposo mesentérico
<b>MyD88</b>	Gene de diferenciação mielóide de resposta primária 88
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sódio
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	Fator nuclear kappa B
<b>PDH</b>	Complexo piruvato desidrogenase
<b>PLIN1</b>	Perilipinas
<b>PI3K</b>	Enzima Fosfatidilinositol-3-quinase
<b>PKA</b>	Proteína quinase A
<b>REAT</b>	Tecido adiposo retroperitoneal
<b>TLR-4</b>	Toll Like Receptor 4
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral Alfa
<b>TRAF-6</b>	Fator associado ao receptor de necrose tumoral 6

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>12</b>
<b>LISTA DE ABREVIACÕES</b> .....	<b>13</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
3.1. Objetivos Gerais .....	29
3.2. Objetivos Específicos .....	29
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
4.1. Animais.....	29
4.2. Desenho experimental .....	30
4.3. Protocolo de Velocidade Máxima .....	31
4.4. Sessão de Exercício Exaustivo .....	32
4.5. Análise Plasmática.....	32
4.6. Coleta Tecidual.....	32
4.7. Ensaio de Lipólise .....	33
4.8. Histologia.....	33
4.9. Conteúdo de Triacilglicerol Muscular .....	34
4.10. Conteúdo de Glicogênio Hepático e Muscular .....	35
4.11. Análise Estatística.....	35
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>36</b>

5.1. Composição Corporal e <i>Performance</i> .....	36
5.2. Perfil Metabólico .....	38
5.3. Conteúdo de Triacilglicerol Muscular .....	40
5.4. Atividade da Lactato Desidrogenase .....	41
5.5. Conteúdo de Glicogênio .....	41
5.6. Ensaio de Lipólise .....	42
5.7. Concentrações de citocina .....	43
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>
<b>9. MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O exercício físico agudo promove perturbações no metabolismo e em mediadores lipídicos, induzindo a transcrição de genes e a síntese de proteínas que influenciam diretamente na produção de citocinas e adipocinas, levando à uma resposta inflamatória local e sistêmica (Teixeira et al., 2016) sendo estas secreções dependentes da intensidade, duração e quantidade de massa muscular envolvida no exercício físico. Durante a realização do exercício aeróbio com intensidade moderada de 65% a 85% do volume de oxigênio máximo ( $VO_{2m\acute{a}x}$ ), há o estímulo da atividade do sistema nervoso simpático e a liberação de catecolaminas circulantes, que aumentam linearmente com a duração do exercício. Este aumento nas concentrações de catecolaminas visa realizar ajustes cardiovasculares, tais como o aumento da frequência cardíaca e pressão sanguínea, e a disponibilização de substratos energéticos (Zouhal et al., 2008). A regulação da lipólise é mediada por fatores hormonais (como a insulina e o glucagon) e/ou fatores neurais e ativação das catecolaminas adrenalina e noradrenalina - liberadas na corrente sanguínea em resposta ao estresse físico, que estimulam os receptores  $\beta$ -adrenérgicos para que possam mobilizar ácidos graxos (AG) do tecido adiposo branco, para que ocorra a manutenção da atividade (Stallknecht et al., 2001).

A ativação dos receptores adrenérgicos nos tecidos-alvos pelas catecolaminas resulta na interação entre as proteínas estruturais que recobrem as gotículas lipídicas, diferentes lipases e seus coativadores (Goodman, 2009). Assim, as proteínas estruturais conhecidas como perilipinas (PLIN1) pertencem à família de fosfoproteínas hidrofóbicas e atuam como uma barreira à ação das lipases. Quando são fosforiladas pela proteína quinase A (PKA), as PLIN1 perdem a sua capacidade de bloqueio, facilitando assim a ação das lipases em



hidrolisar o TAG da gotícula lipídica e liberar as moléculas de AGL e glicerol (Nielsen et al., 2014) e disponibilizando esse substrato na corrente sanguínea. Desse modo, a fosforilação aumentada da lipase de triacilglicerol do adipócito (ATGL), por exemplo, inicia a lipólise hidrolisando o triacilglicerol (TAG) que resultará em diacilglicerol. Sequencialmente, o diacilglicerol é hidrolisado pela lipase hormônio sensível (HSL) em monoacilglicerol. Posteriormente, este monoacilglicerol é hidrolisado pela lipase de monoglicerídeos (MGL) em glicerol (Mcgarr et al., 1976), sendo que cada um desses processos resulta na liberação de uma molécula AGL.

O tecido adiposo branco é um tecido especializado, cuja principal função é a reserva de energia e armazenamento de gorduras, entretanto, observou-se que os adipócitos são células altamente secretoras - devido a sua capacidade de se comunicar com outros tecidos e o sistema imunológico por meio de secreção de peptídeos, lipídeos e miRNAs - e que a heterogeneidade dos seus depósitos contribui diferentemente tanto para a homeostase quanto a modulação da inflamação (Goodman, 2009; Kahn et al., 2019). Diante do exposto, Rosa-Neto et al (2009) observaram que após uma sessão de exercício exaustivo (corrida a 70%  $V_{m\acute{a}x}$  por 50 min e incremento de 1 m/min a cada minuto até a exaustão) a expressão de mRNA e o conteúdo protéico de Interleucina 10 (IL-10) e a razão Fator de necrose tumoral alfa e IL-10 (IL-10/TNF- $\alpha$ ) induziu um efeito anti-inflamatório nos músculos extensor longo dos dedos (EDL) e sóleo, especialmente nas fibras do tipo 2. Todavia, os autores observaram efeito pró-inflamatório das citocinas Interleucina 6 (IL-6) e TNF- $\alpha$  no tecido adiposo, as quais possivelmente contribuiriam para o aumento da lipólise, aumentando a disponibilidade de substrato para os músculos esqueléticos para a manutenção da atividade contrátil durante o exercício. Posteriormente, o mesmo grupo publicou um estudo demonstrando que, no tecido adiposo retroperitoneal, as concentrações de Toll-like receptor 4 (TLR-4), o gene 88

da resposta primária de diferenciação mieloide (Myd-88) e I $\kappa$ B $\alpha$  permaneceram elevadas até 2 horas após o exercício, enquanto que no tecido adiposo mesentérico o receptor 6 associado ao fator de necrose tumoral (TRAF-6) Myd-88 permaneceram elevados por até 6 horas em comparação com o grupo não exercitado, demonstrando que o aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias nos tecidos adiposos poderia ser mediado via sinalização de TLR-4, levando a aumentos na atividade nuclear de fator de transcrição via fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B).

Neste contexto, destaca-se que os TLRs são receptores presentes na membrana plasmática que desempenham papel crucial na defesa do hospedeiro contra os processos infecciosos e inflamatórios, na manutenção da homeostase e em diversas doenças. São responsáveis pelo reconhecimento dos padrões moleculares associados a patógenos expressos por um amplo espectro de agentes infecciosos, como bactérias gram-positivas e gram-negativas, vírus DNA e RNA, protozoários e fungos, e agem através da ativação da resposta imunológica pelos fatores de transcrição e a produção de citocinas pró-inflamatórias (Wu et al., 2015).

Tem sido demonstrado que o LPS se acopla aos receptores TLR-4 ativando a produção de polipeptídeos com papel imunorregulatório - denominados citocinas pró-inflamatórias - principalmente o TNF- $\alpha$  (representado pela Figura 1) (Rosa Neto et al., 2009; Teixeira et al., 2016). Nesse contexto, foi demonstrado que camundongos nocaute para TLR4 ou com uma mutação inativadora no gene que codifica essa proteína, ficaram protegidos da resistência à insulina e a ativação das serinas quinases IKK $\beta$  e JNK, induzidas por uma dieta hiperlipídica, sugerindo que o TLR-4 seja provavelmente o modulador chave no cross-talk entre a via metabólica e inflamatória (Kim et al., 2007; Nguyen et al., 2007).

Entretanto, Lira et al (2008) após protocolo de treinamento crônico (corrida em esteira

5 dias por semana a 55-65% do VO<sub>2</sub>max, durante 8 semanas) observou-se o aumento na concentração de IL-10 (1,5 vezes) e da razão IL-10/TNF- $\alpha$  no tecido adiposo mesentérico do grupo treinado quando comparado com os animais sedentários, sugerindo que esse efeito pró-inflamatório observado no tecido adiposo seria temporário. Os autores observaram ainda que esse efeito anti-inflamatório do treinamento físico estava associado ao recrutamento reduzido de macrófagos M1 e, conseqüentemente, redução de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo de camundongos (Lira et al., 2008). Portanto, hipotetizamos que durante exercício, principalmente exaustivo, tais citocinas favoreceriam o processo lipolítico, aumentando a disponibilidade de ácidos graxos liberados para a corrente sanguínea e que podem ser captados com substrato à musculatura esquelética para manutenção da atividade contrátil, criando um “looping” imuno-metabólico contínuo. Além disso, o excesso de ácidos graxos livres circulantes podem induzir a resposta parácrina e a liberação de citocinas inflamatórias potencializando o processo de lipólise, uma vez que essas citocinas elevam a atividade da ATGL e HSL, contribuindo para o aumento de mais AGL e gerando assim o ciclo lipólise-inflamação (Teixeira et al, 2016).

## 7. CONCLUSÃO

Além disso, para melhor responder nossos objetivos, a linhagem de animais C57BL/6J foi subdividida em dois tratamentos: 1) grupo Propranolol (Sigma Alderich®) - que recebeu 10 mg/kg de peso corporal de Cloridrato de DL-Propranolol, bloqueador beta-adrenérgico pelo método de gavagem 30 minutos antes do protocolo de exercício; e 2) grupo Salina - que recebeu a mesma dosagem de salina (controle), conforme a Figura 4.

## 8. REFERÊNCIAS

- Al-Majed, A. A., Bakheit, A. H. H., Abdel Aziz, H. A., Alajmi, F. M., & AlRabiah, H. (2017). Propranolol. Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol. 2017;42:287-338. doi: 10.1016/bs.podrm.2017.02.006.
- Brooks GA, Dubouchaud H, Brown M, Sicurello JP, Butz CE. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. Proceedings of the National Academy of Sciences Feb 1999, 96 (3) 1129-1134; DOI: 10.1073/pnas.96.3.1129
- Cawthorn WP, Sethi JK. TNF-alpha and adipocyte biology. FEBS Lett. 2008 Jan 9; 582(1):117-31.
- Dreyer C, Keller H, Mahfoudi A, Laudet V, Krey G, Wahli W. Positive regulation of the peroxisomal beta-oxidation pathway by fatty acids through activation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR). Biol Cell. 1993;77(1):67-76.
- Ferraz EG, Silveira BBB, Sarmiento VA, Santos JN. Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. Rev Gaúcha Odontol 2011; 59(3): 483-490.
- Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007 Aug;34(8):760-5.
- Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? Exerc Immunol Rev. 2006;12:6-33.
- Francaux M. Toll-like receptor signalling induced by endurance exercise. Appl Physiol Nutr Metab. 2009 Jun;34(3):454-8. doi: 10.1139/H09-036.
- Freitas AL e Marangon AFC. Consumo Excessivo De Oxigênio Após Atividade Física – Epoc: Uma Breve Explicação. Universitas: Ciências da Saúde. 2004; 2(2):291-306. doi: 10.5102/UCS.V2I2.542
- Frisard MI, McMillan RP, Marchand J, Wahlberg KA, Wu Y, Voelker KA, Heilbronn L,

- Haynie K, Muoio B, Li L, Hulver MW. Toll-like receptor 4 modulates skeletal muscle substrate metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010 May;298(5):E988-98. doi: 10.1152/ajpendo.00307.2009. Epub 2010 Feb 23.
- Fritzen AM, Lundsgaard AM, Jeppesen J, Christiansen ML, Biensø R, Dyck JR, Pilegaard H, Kiens B. 5'-AMP activated protein kinase  $\alpha$ 2 controls substrate metabolism during post-exercise recovery via regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4. *J Physiol.* 2015 Nov 1;593(21):4765-80. doi: 10.1113/JP270821.
- Gleeson M, McFarlin B, Flynn M. Exercise and Toll-like receptors. *Exerc Immunol Rev* 2006; 12: 34-53.
- Goodman JM. Demonstrated and inferred metabolism associated with cytosolic lipid droplets. *J Lipid Res*, 2009; 50: 2148-2456.
- Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 May;9(5):367-77. doi: 10.1038/nrm2391.
- Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996 Feb 2;271(5249):665-8.
- Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death and Differentiation* 2006; 13: 816–825.
- Kim F, Pham M, Luttrell I, Bannerman DD, Tupper J, Thaler J, et al.: Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity. *Circ Res.* 2007;100:1589-1596.
- Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Jun;24(6):276-83.
- Lafontan M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. *Diabetes Metab* 2014; 40(1): 16-28.

- Lancaster GI, Langley KG, Berglund NA, Kammoun HL, Reibe S, Estevez E, et al. Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. *Cell Metab.* 2018 May 1;27(5):1096-1110.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.014.
- Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, Seelaender MCL. Endurance training induces depot-specific changes in IL-10/TNF- $\alpha$  ratio in rat adipose tissue. *Cytokine* 2008; 45(2):80-85. DOI: 10.1016/j.cyto.2008.10.018
- McGarr JA, Oscai LB, Borensztajn J. Effect of exercise on hormone-sensitive lipase activity in rat adipocytes. *Am J Physiol* 1976; 230(2):385-388.
- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388:394-397.
- Miyoshi H, Souza S, Zhang HH, Strissel K, Christoffolete M, Kovsan J, Rudich A, Kraemer F, Bianco A, Obin M, Greenberg, A. Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem* 2006; 281:15837–15844.
- Nielsen TS, Jessen N, Jørgensen JOL, Møller N, Lund S. Dissecting adipose tissue lipolysis: molecular regulation and implications for metabolic disease. *J Mol Endoc* 2014; 52:199–222.
- Nguyen MT, Favelyukis S, Nguyen AK, Reichart D, Scott PA, Jenn A, et al.: A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem* 2007;282:35279-35292.
- Olesen J, Biensø RS, Meinertz S, van Hauen L, Rasmussen SM, Gliemann L, Plomgaard P, Pilegaard H. Impact of training status on LPS-induced acute inflammation in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2015 Apr 1;118(7):818-29. doi: 10.1152/jappphysiol.00725.2014. Epub 2014 Dec 30.
- Pedersen, BK, Febbraio, MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008 Oct;88(4):1379-406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007.

- Radin MS, Sinha S, Bhatt BA, Dedousis N, O'Doherty RM. Inhibition or deletion of the lipopolysaccharide receptor Toll-like receptor-4 confers partial protection against lipid-induced insulin resistance in rodent skeletal muscle. *Diabetologia*. 2008 Feb;51(2):336-46. Epub 2007 Dec 1.
- Rosa JC, Lira FS, Eguchi R, Pimentel GD, Venancio DP, Cunha CA, Oyama LM, Mello MT, Seelaender M e Nascimento MOO. Exhaustive exercise increases inflammatory response via Toll like receptor-4 and NF- $\kappa$ Bp65 pathway in rat adipose tissue. *Prog Lipid Res* 2009a; 48(3-4): 171-190.
- Rosa-Neto JC, Lira FS, Oyama LM, Zanchi NE, Yamashita LS, Batista MLJ, Nascimento CMO, Seelaender M. Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. *Eur J Appl Physiol* 2009b; 106: 697–704.
- Schaeffler A, Gross P, Buettner R, Bollheimer C, Buechler C, Neumeier M, Kopp A, Schoelmerich J, Falk W. Fatty acid-induced induction of Toll-like receptor-4/nuclear factor-kappaB pathway in adipocytes links nutritional signalling with innate immunity. *Immunology* 2009; 126(2): 233-245.
- Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 2012; 9(7): 676-682.
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006 Nov;116(11):3015-25. Epub 2006 Oct 19.
- Stallknecht B, Lorentsen J, Enevoldsen LH, Bülow J, Biering-Sørensen F, Galbo H, Kjaer M. Role of the sympathoadrenergic system in adipose tissue metabolism during exercise in humans. *J Physiol* 2001; 536: 283–294.
- Teixeira AA, Lira FS, Pimentel GD, Oliveira de Souza C, Batatinha H, Biondo LA, Yamashita AS, Junior EA, Neto JC. Aerobic Exercise Modulates the Free Fatty Acids and Inflammatory Response During Obesity and Cancer Cachexia. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2016;26(3):187-98. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2016016490. Review.



- Travassos PB, Godoy G, De Souza HM, Curi R, Bazotte RB. Performance during a strenuous swimming session is associated with high blood lactate: pyruvate ratio and hypoglycemia in fasted rats. *Braz J Med Biol Res.* 2018 Mar 26;51(5):e7057. doi: 10.1590/1414-431X20187057.
- Van Handel E. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Anal Biochem.* 1965 May;11(2):256-65.
- Wang P, Wu P, Anthes JC, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils. *Blood.* 1994 May 1;83(9):2678-83.
- Yang R, Le G, Li A, Zheng J, Shi Y. Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. *Nutrition* 2006; 22(11-12): 1185-91.
- Zbinden-Foncea H, Deldicque L, Pierre N, Francaux M, Raymackers JM. TLR2 and TLR4 activation induces p38 MAPK-dependent phosphorylation of S6 kinase 1 in C2C12 myotubes. *Cell Biol Int.* 2012;36(12):1107-13. doi: 10.1042/CBI20120081.
- Zhang Z, Schluesener HJ. Mammalian toll-like receptors: from endogenous ligands to tissue regeneration. *Cell Mol Life Sci.* 2006 Dec;63(24):2901-7.
- Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Med.* 2008; 38(5):401-23. Review.