

DANIELA LEONARDO DE ALBUQUERQUE

AVALIAÇÃO DO DESTREINAMENTO FÍSICO NA SUSCETIBILIDADE À
SÍNDROME METABÓLICA EM UM MODELO MURINO

Orientadora: ProfaDra Lúiza Antas Rabêlo

Coorientadora: ProfaDra Valéria Nunes de Souza

Maceió

2018

DANIELA LEONARDO DE ALBUQUERQUE

AVALIAÇÃO DO DESTREINAMENTO FÍSICO NA SUSCETIBILIDADE À
SÍNDROME METABÓLICA EM UM MODELO MURINO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Orientadora: ProfaDra Luíza Antas Rabêlo

Coorientadora: ProfaDra Valéria Nunes de Souza

Maceió

2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecário Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale – CRB4 - 661

A345a Albuquerque, Daniela Leonardo de.
Avaliação do destreinamento físico na suscetibilidade à síndrome metabólica em um modelo murino / Daniela Leonardo de Albuquerque. – 2019.
81 f. : il. color.

Orientadora: Luíza Antas Rabêlo.

Coorientadora: Valéria Nunes de Souza.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2018.

Bibliografia: f. 75-80.

Anexos: f. 81.

1. Obesidade. 2. Síndrome metabólica. 3. Treinamento físico – Interrupção.
4. Dieta hipercalórica. I. Título.

CDU: 613.2:796



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ICBS - UFAL - Campus A. C. Simões
Av. Lourival Melo Mota, 57/N
Cidade Universitária - Maceió-AL
CEP: 57072-900
E-mail: ppgos9@gmail.com
Fone: 82 3214 1850

Folha de Aprovação

Daniela Leonardo de Albuquerque

Avaliação do destreinamento físico na suscetibilidade à síndrome metabólica em um modelo murino.

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 29 de março de 2018.

Banca Examinadora

Prof.ª Dr.ª Luiza Antas Rabelo (Orientador)

Prof.ª Dr.ª Priscila da Silva Guimarães - (UFAL)

Prof.ª Dr.ª Alke Priscila Pansani - (UFG)

Aos que me incentivaram e me apoiaram nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos em minha vida, por me proteger de todo o mal, guiar-me nos melhores caminhos, por sua infinita misericórdia e por me dar forças em toda caminhada;

Aos meus pais, minha mãe Helena Leonardo por me incentivar a continuar diante das dificuldades, pelo exemplo de mulher, pelos ensinamentos e apoio em toda a minha vida; meu pai José Sapucaia pelo carinho muitas vezes disfarçado e sem jeito. Obrigada pela formação que me deram;

À ProfaDra. Luíza Antas Rabêlo pela oportunidade e confiança depositada, por todo o aprendizado, orientação, paciência, tempo dispensado e pelo exemplo muitas vezes incentivador;

À ProfaDra Valéria Nunes de Souza pela coorientação, por aceitar tão difícil tarefa, por todo o aprendizado proporcionado, pelos experimentos e por todo o apoio e incentivo;

Aos colegas integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Reatividade Cardiovascular: Nelson, Silmara, Andrei, Fernanda, Tamires, Marina, Jaime, Luciana, Marcos, Lucilo, Elisa, Valdemir, Vanessa, Laíse, Maria Vicência, Wellington, Luana e Teresa pela ajuda em experimentos, pelo aprendizado compartilhado que contribuiu para o meu crescimento profissional e pessoal. Dentre os colegas, em especial a Carlos Eduardo Menezes, que incentivou-me e ajudou-me em experimentos, no treinamento dos animais, bem como na pesquisa e na vida;

Agradecimentos aos animais experimentais (camundongos **C57Bl/6**), sem os quais não seria possível o desenvolvimento da dissertação;

Aos meus amigos que me indicaram o caminho da pesquisa e me incentivaram a buscar sempre mais: Selma Bezerra, Fabiana Moura, Luciano Amorim, Helenice Fragoso. Às amigas Divane Oliveira, Shirley Guimarães e Genésia Albuquerque que estiveram ao meu lado em momentos difíceis, ouvindo-me e incentivando-me. E a todos os amigos que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal;

À ProfaDra Salete Smaniotto, Setor de Histologia, pela cessão do microscópio ótico e sistema de análise de imagens (Experimentos da Histologia);

Ao **ProfDr Michael Bader** (Max Delbrück Center for Molecular Medicine, MDC-Berlin) pela colaboração e doação de alguns reagentes necessários para a realização das dosagens enzimáticas;

À **Universidade Federal de Alagoas** e à **Pós-Graduação em Ciências da Saúde e a todos os professores** pela oportunidade do mestrado e colaboração na minha formação profissional;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em NanoBiofarmacêutica (INCT-Nano Biofar) por parte do fomento financeiro da pesquisa;

À Banca de qualificação, composta pelo ProfDr Marcos Antônio Eleutério-Silva e pela ProfaDra Priscila Guimaraes pelas observações e sugestões que contribuíram para a qualidade da dissertação.

Muito obrigada!

Daniela Leonardo

“Tudo é considerado impossível até acontecer.”

Nelson Mandela

“Ao medo cabe o poder de paralisar os que não sabem do que são capazes”.

Pe. Fábio de Melo

RESUMO

O excesso de peso e obesidade ocasionados pelo sedentarismo e pela alimentação caracterizada pelo elevado consumo de gordura, aparece como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) e tem agravado o quadro de doenças cardiovasculares e metabólicas, a exemplo da Síndrome Metabólica (SMet). Diante disso, no presente estudo, intentou-se avaliar os efeitos do destreino físico para a suscetibilidade à síndrome metabólica dietética em um modelo murino. Camundongos machos C57BL/6 com idade entre 10-12 semanas, foram randomicamente divididos em quatro grupos experimentais: um grupo controle sedentário (CS "chow") e um grupo destreinado (D"chow") alimentados com dieta padrão (Nuvilab® São Paulo – SP, Brasil); um grupo controle sedentário (CS HFD) e um grupo destreinado (DHFD), os quais, inicialmente, foram alimentados com dieta padrão e, posteriormente, alimentados com dieta hipercalórica, durante o período de destreino. O treinamento foi realizado durante 4 semanas, 5 dias/semana, 2 vezes ao dia com 90 minutos/sessão, apenas pelos grupos D "chow" e D HFD. Após o protocolo de treinamento, os dois grupos permaneceram 8 semanas em destreino e apenas os grupos CS HFD e D HFD receberam dieta hipercalórica. Ao término do período experimental, o grupo DHFD apresentou ganho significativo de peso corporal e deposição de gordura visceral comparado aos CS HFD e D"chow". A glicemia de jejum foi significativamente maior no DHFD comparado aos demais grupos. O consumo da dieta "high fat" induziu intolerância à glicose e redução da sensibilidade à insulina, sendo mais acentuada no grupo destreinado (DHFD). O perfil lipídico plasmático apresentou aumento do colesterol nos grupos CS HFD e DHFD; os triglicérides e VLDL não foram diferentes entre os grupos; observou-se diminuição dos AGNE no grupo D"chow" comparado ao CS "chow". Associado ao aumento de massa hepática, o perfil lipídico hepático mostrou aumento significativo do colesterol, fração VLDL e triglicérides no grupo destreinado (DHFD vs CS HFD; DHFD vs D"chow"). Por outro lado, observou-se diminuição de VLDL e triglicérides no grupo destreinado D"chow" comparado ao sedentário CS "chow" (D"chow" vs CS "chow"). No entanto, não houve diferença entre os grupos para os níveis de AGNE hepáticos. Na análise histológica do fígado, observou-se deposição qualitativa lipídica para micro e macro vacúolos de gordura apenas no grupo DHFD, e para micro vacúolos no CS HFD. Os marcadores de dano hepático ALT e AST, assim como a razão AST/ALT não apresentaram alterações significativas em nenhum dos grupos. A atividade sistêmica e hepática da enzima catalase não apresentou alteração significativa em nenhum dos grupos experimentais, assim como a atividade hepática da enzima arginase. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a ingestão de alimentos hipercalóricos durante o período de destreino é fator agravante ao desenvolvimento da obesidade, que, em longo prazo, pode favorecer ao aparecimento da esteatose hepática e, em maior grau, da SMet.

Palavras-Chave: Suscetibilidade à Síndrome Metabólica. Treinamento Físico. Destreino. Dieta hipercalórica.

ABSTRACT

The growing number of overweight and obese people, caused by sedentary lifestyle and high-fat eating, appears to be one of the main risk factors for the development of chronic noncommunicable diseases (CDNTs) and has aggravated the cardiovascular and metabolic diseases, such as Metabolic Syndrome (SMet). Thus, in the present study, we attempted to evaluate the effects of physical detraining for the susceptibility to dietary metabolic syndrome in a murine model. Male C57BL / 6 mice aged 10-12 weeks were randomly assigned to four experimental groups: a sedentary control group (CS "chow") and a detraining group (D"chow") fed a standard diet (Nuvilab® São Paulo - SP, Brazil); a sedentary control group (CS HFD) and a detraining group (DHFD) who initially were fed a standard diet (Nuvilab® São Paulo - SP, Brazil) and later fed a high calorie diet during the detraining period. The training was performed for 4 weeks, 5 days / week, 2 times daily with 90 minutes / session, only by groups D "chow" and D HFD. After the training protocol the twogroups remained 8 weeks in detraining and only the CS HFD and DHFD groups received a hypercaloric diet. At the end of the experimental period, the animals of the D HFD group presented a significant gain in body weight and visceral fat deposition compared to CS HFD and D chow, indicating that detraining accentuates the metabolic effects associated with the hypercaloric diet. At the end of the experiment, fasting glycemia was significantly higher in D HFD compared to the other groups. The consumption of the high fat diet induced glucose intolerance and reduced insulin sensitivity, being more pronounced in the detraining group (D HFD). The plasma lipid profile showed increased cholesterol in the CS HFD and D HFD groups; the triglycerides and VLDL were not different between the groups; there was a decrease of the NEFA in the Dchow group compared to the CS chow. Associated with increased liver mass, the liver lipid profile showed a significant increase in cholesterol, VLDL fraction and triglycerides in the detraining group (D HFD vsCS HFD, D HFD vsD"chow"). On the other hand, there was a decrease in VLDL and triglycerides in the detraining group D "chow" compared to sedentary CS "chow" (D"chow" vs. CS "chow"). However, there was no difference between groups for hepatic AGNE levels. In the histological analysis of the liver, qualitative lipid deposition was observed for micro and macro fat vacuoles only in the D HFD group, and for micro vacuoles in the CS HFD. The markers of ALT and AST liver damage, as well as the AST / ALT ratio, did not show significant changes in either group. The systemic and hepatic activity of the enzyme catalase did not present significant alteration in any of the experimental groups, as well as the hepatic activity of the enzyme arginase. In view of the results obtained, it is concluded that the ingestion of hypercaloric foods during the detraining period is an aggravating factor to the development of obesity, which in the long term may favor the appearance of hepatic steatosis and, to a greater degree, SMet.

Key words: Susceptibility to Metabolic Syndrome. Physical training.Detraining.Hypercaloric diet.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 1 - | Representação esquemática dos agravos da SMet | 23 |
| Figura 2- | Representação esquemática do desequilíbrio redox..... | 30 |
| Figura3 - | Representação esquemática do delineamento experimental..... | 43 |
| Figura4 - | Dieta padrão para roedores (A); dieta hipercalórica (B)..... | 44 |
| Figura5 - | Tanque aquático de vidro..... | 45 |
| Figura 6 - | Medida do comprimento nasoanal..... | 48 |
| Figura7- | Esquema para dosagem em microplaca..... | 49 |
| Figura8- | Microfotografias de cortes histológicos representativos dos grupos experimentais. Histologia hepática normal do grupo controle CS “chow” (A), do grupo D“chow” (B). Com micro vacúolos de gordura no grupo CS HFD (C) e com micro e macro vacúolos de gordura, indicativo de infiltração gordurosa no grupo DHFD (D)..... | 63 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | | |
|------------|--|----|
| Gráfico 1- | Acompanhamento da ingestão sólida (g) (A), peso corporal (g) (B) e Índice Lee (g/cm)(C)..... | 54 |
| Gráfico2 - | Acompanhamento da glicemia de jejum (mg.dL^{-1})..... | 55 |
| Gráfico3 - | Tolerância à glicose..... | 56 |
| Gráfico4 - | Sensibilidade à insulina..... | 57 |
| Gráfico5 - | Perfil lipídico plasmático: colesterol(A); triglicerídeos(B); ácidos graxos não esterificados (AGNE)(C) e VLDL(D)..... | 60 |
| Gráfico6 - | Avaliação do dano hepático:Aspartatoaminotrasferase – AST(A); Alanina Aminotrasferase– ALT(B); Razão AST/ALT(C)..... | 61 |
| Gráfico7 - | Perfil lipídico hepático: colesterol(A); triglicerídeos(B); ácidos graxos não esterificados (AGNE) (C) e VLDL(D). | 62 |
| Gráfico8 - | Mensuração da atividade da catalase plasmática(A)e hepática (B)..... | 64 |
| Gráfico9- | Mensuração da atividade da arginase hepática..... | 64 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Valores de circunferência da cintura conforme etnia para diagnóstico de Síndrome Metabólica..... | 26 |
| Tabela 2 - | Critérios de diagnóstico para Síndrome Metabólica, segundo diferentes diretrizes..... | 26 |
| Tabela 3 - | Distribuição do percentual calórico dos macronutrientes das dietas padrão e hipercalórica..... | 44 |
| Tabela 4 - | Peso relativo tecidual normalizado pela tíbia..... | 59 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Plano alimentar recomendado para SMet, segundo a I-DBSM..... | 33 |
| Quadro 2 - Recomendações de exercício físico para indivíduos com SMet de acordo com a I-DBSM..... | 33 |
| Quadro 3 - Calendário de treinamento | 45 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------|---|
| ABESO | Associação Brasileira para o Estudo sobre a Obesidade |
| ACMS | American College of Sports Medicine |
| AGNE | Ácidos Graxos Não Esterificados |
| AGS | Ácidos Graxos Monoinsaturados |
| AGPI | Ácidos Graxos Poliinsaturados |
| AGS | Ácidos Graxos Saturados |
| ALT | Alanina Aminotransferase |
| ATP-CP | Adenosina Trifosfato – Creatina fosfato |
| BIOCEN | Biotério Central |
| CAT | Catalase |
| CEA | Coefficiente de Eficiência Alimentar |
| CS | Controle Sedentário |
| D | Destreinado |
| DCNT | Doença Crônica Não Transmissível |
| DCV | Doenças Cardiovasculares |
| DHGNA | Doenças Hepáticas Gordurosas Não Alcoólicas |
| DM2 | Diabetes Mellitus tipo 2 |
| HE | Hematoxilina e Eosina |
| GPX | Glutathione Peroxidase |
| GSH | Glutathione Reduzida |
| HDL | “High Density Lipoprotein” (Lipoproteína de Alta Densidade) |
| HFD | “High fat diet” - Dieta hipercalórica |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| ICBS | Instituto de Ciências Biológicas |
| I-DBSM | I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica |
| IDF | “International Diabetes Federation” (Federação Internacional de Diabetes) |
| IL-1 β | Interleucina 1 β |
| IL-6 | Interleucina 6 |
| LDL | “Low Density Lipoprotein” (Lipoproteína de Baixa Densidade) |

| | |
|--------------|--|
| LHS | Lipase Hormônio Sensível |
| LPL | Lipase Lipoprotéica |
| LRC | Laboratório de Reatividade Cardiovascular |
| MDC | Max Delbrück Center for Molecular Medicine |
| NCEP-ATP III | “NationalCholesterolEducationProgram’sAdultTreatmentPanel III” (Painel de Tratamento Adulto do Programa Nacional de Educação sobre Colesterol III) |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PC | Peso Corporal |
| PI | Peso Inicial |
| PF | Peso Final |
| PT | Peso do tecido |
| PNAD | Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios |
| PNS | Pesquisa Nacional de Saúde |
| RI | Resistencia à insulina |
| SBC | Sociedade Brasileira de Cardiologia |
| SBD | Sociedade Brasileira de Diabetes |
| SBEM | Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia |
| SBH | Sociedade Brasileira de Hipertensão |
| SMet | Síndrome Metabólica |
| SOD | Superóxido Dismutase |
| TA | Total de Alimentos |
| TAB | Tecido Adiposo Branco |
| TAM | Tecido Adiposo Marrom |
| TNF α | Fator de Necrose Tumoral α (“tumoral necrose fator α ”) |
| UFAL | Universidade Federal de Alagoas |
| UFPE | Universidade Federal de Pernambuco |
| VIGITEL | Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico |
| VLDL | “VeryLowDensityLipoprotein” (Lipoproteína de Densidade Muito Baixa) |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1INTRODUÇÃO..... | 18 |
| 1.1 Problematização..... | 18 |
| 1.2. Justificativa..... | 20 |
| 2OBJETIVOS..... | 22 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 22 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 22 |
| 3REVISÃO DA LITERATURA..... | 23 |
| 3.1 Síndrome Metabólica do conceito ao tratamento..... | 23 |
| 3.1.1 Conceito..... | 23 |
| 3.1.2 Critérios de diagnóstico..... | 24 |
| 3.1.3 Prevalência da SMet no Brasil..... | 27 |
| 3.1.4 Fatores de risco para SMet..... | 28 |
| 3.1.5 Tratamento da SMet..... | 32 |
| 3.2 Aspectos conceituais da Atividade Física e Exercício Físico..... | 34 |
| 3.3 Modelos animais de SMet e Exercício Físico..... | 37 |
| 3.4 Destreinamento e sua repercussão..... | 39 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 42 |
| 4.1 Animais e delineamento experimental..... | 42 |
| 4.2 Dieta hipercalórica..... | 43 |
| 4.3 Treinamento..... | 44 |
| 4.4 Avaliações in vivo..... | 46 |
| 4.4.1Ingestão alimentare Peso corporal..... | 46 |
| 4.4.2Glicemia de jejum..... | 46 |
| 4.4.3 Avaliação da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina..... | 46 |
| 4.5 Eutanásiados animais..... | 47 |
| 4.6 Peso relativo tecidual..... | 48 |
| 4.7Avaliações sistêmicas e hepáticas..... | 48 |
| 4.7.1 Avaliação do perfil lipídico plasmático..... | 48 |
| 4.7.2 Avaliações de marcadores de dano hepático..... | 49 |
| 4.7.3 Avaliação do perfil lipídico hepático..... | 50 |
| 4.7.4 Avaliação histológica hepática..... | 50 |

| | |
|--|-----------|
| 4.7.5 Mensuração da atividade da catalase plasmática e hepática..... | 51 |
| 4.7.6 Mensuração da arginase hepática..... | 51 |
| 4.7.7Análise de Resultados..... | 52 |
| 5 RESULTADOS..... | 53 |
| 5.1 Ingestão alimentar, Peso corporal e Índice Lee..... | 53 |
| 5.2 Glicemia de jejum..... | 55 |
| 5.3 Tolerância à glicose..... | 55 |
| 5.4Sensibilidade à insulina..... | 57 |
| 5.5Peso relativo tecidual..... | 58 |
| 5.6Avaliações sistêmicas e hepáticas..... | 59 |
| 5.6.1 Perfil lipídico plasmático | 59 |
| 5.6.2 Avaliações do dano hepático..... | 60 |
| 5.6.3 Perfil lipídicohepático..... | 61 |
| 5.6.4 Análise histológicahepática | 62 |
| 5.6.5 Mensuração da atividade da catalase plasmática e hepática..... | 63 |
| 5.6.6 Mensuração da arginasehepática | 64 |
| 6. DISCUSSÃO..... | 65 |
| 7. CONCLUSÃO..... | 74 |
| REFERÊNCIAS | 75 |
| ANEXO | 81 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Problematização

Na atual conjuntura socioeconômica, o sedentarismo aparece como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs). Associado a uma alimentação inadequada, a inatividade física tem agravado o quadro de doenças cardiovasculares e metabólicas, a exemplo da Síndrome Metabólica (SMet) (MAZZUCATO, 2013), a qual pode ser evitada com mudanças nos hábitos e no estilo de vida.

A referida síndrome é caracterizada pela presença de múltiplos distúrbios metabólicos tais como: diabetes tipo 2, hipertensão arterial sistêmica, resistência à insulina, dislipidemia, obesidade central (ALBERTI et al, 2009) e a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)(NUNES-SOUZA et al., 2016; FRAULOB et al., 2010; ANSTEEN e GOLDIN, 2006), que por sua vez, atuam como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) (GRUNDY, 2004).

A inatividade física é considerada um dos principais problemas de saúde em todo o mundo (ACMS, 2003) e dados do Ministério da Saúde mostram que o sedentarismo é o quarto maior fator de risco de mortalidade global. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 3,2 milhões de mortes por ano no mundo são atribuídas à atividade física insuficiente. Apesar da prática de exercícios físicos estar aumentando no Brasil, ainda é crescente o número de pessoas com excesso de peso no país, uma vez que 53,8% dos brasileiros estão acima do peso e 18,9% da população está obesa (BRASIL; 2016).

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, sendo um fator de risco para doenças crônicas, as quais respondem por 72% dos óbitos no país (VIGITEL, 2016). Segundo SERTIÉ (2010), o excesso de peso e a obesidade, consideradas como principais causas da SMet, estão mais relacionados à inatividade física do que a alimentação com alto teor de gordura, excesso de cloreto de sódio, baixo consumo de frutas, hortaliças e vegetais. Embora existam evidências bem documentadas na literatura sobre os efeitos do exercício físico para a saúde (LAVIE et al., 2015), o ritmo de vida acelerado, o avanço tecnológico, bem como aspectos socioeconômicos interferem na prática contínua de exercícios físicos (GREEN et. al., 2017). Assim, mesmo os mais assíduos praticantes de exercícios

físicos podem apresentar motivos que os impeçam de praticá-los rotineiramente. Nesta direção, por destreinamento entende-se a interrupção do treinamento físico por tempo suficiente para a diminuição do desempenho desportivo e/ou aptidão física (MUJICA IÑIGO, 2000). O fato de o exercício físico apresentar ação sobre o controle metabólico, sistema músculo esquelético e função cognitiva, e que indivíduos com níveis elevados de atividade física têm menor prevalência e menores taxas de mortalidade por DCV (FERNANDES et al., 2015), atenta-nos a questionar se um período de destreinamento físico, posterior a prática de exercício aeróbico, influenciaria no desenvolvimento e no agravamento da SMet.

1.2 Justificativa

Em dez anos (2006 a 2016) houve um aumento em 26,3% no número de pessoas com excesso de peso e de 60% de pessoas com obesidade no Brasil (BRASIL, 2016). Neste levantamento, tem-se que os principais fatores são ocasionados pela alimentação inadequada, caracterizada pelo elevado consumo de alimentos refinados e industrializados com alto teor calórico, e o sedentarismo que aumenta com a idade, apesar dos esforços dos órgãos de saúde no sentido de melhorar a alimentação e em proporcionar a prática de atividade física (BRASIL, 2016).

Neste sentido, a prática regular de atividade física é fundamental para a manutenção da saúde e prevenção e/ou tratamento das DCNTs, que por sua vez, são resultados de diversos fatores condicionantes, destacando-se a genética e o estilo de vida, das quais a SMet se apresenta cada vez mais frequente (NUNES-SOUZA et al., 2016). No entanto, o ritmo de vida cada vez mais acelerado tem deixado menos espaço para a prática de atividade física regular como também para a alimentação equilibrada e saudável, tendo em vista o aumento do consumo de alimentos “prontos”, industrializados (SBEM, 2014).

No cenário exposto, sabe-se que o treinamento físico aeróbio previne e/ou reduz distúrbios metabólicos induzidos por dieta hipercalórica (HIGA, 2012), e é eficaz como um agente terapêutico não farmacológico para várias situações de morbidade (ELEUTÉRIO-SILVA et al., 2013). Ademais, as adaptações fisiológicas adquiridas com o treinamento físico são reversíveis com a inatividade (SERTIÉ, 2010). Essa última é visto no princípio da reversibilidade, a qual defende que a suspensão e/ou redução do treinamento leva ao reajuste dos sistemas corporais, de acordo com a diminuição do estímulo fisiológico (MONTEIRO, 2011). No entanto, pouco se sabe acerca da suscetibilidade à SMet quando cessado o treinamento físico, em comparação ao indivíduo que nunca praticou treinamento físico regular.

Diante das premissas elencadas, este estudo avalia a suscetibilidade à SMet, com enfoques em agravos metabólicos durante o período de inatividade física em camundongos que foram anteriormente submetidos ao treinamento físico por natação. Para tanto, utilizou-se um modelo animal de treinamento físico e SMet com camundongos (*Mus musculus*), visto que apresentam genoma muito parecido com o do ser humano, aproximadamente 99% (CONSORTIUM, 2002), além de protocolos

já padronizados tanto por outros grupos (EVANGELISTA et al., 2003) quanto pelo nosso Laboratório.

Neste contexto, intenta-se avaliar as alterações nos componentes metabólicos que podem contribuir para o entendimento do papel do destreinamento físico associado à dieta hipercalórica como fator de risco ao desenvolvimento de doenças metabólicas, como aquelas descritas na SMet.

2OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliaros efeitos do destreinamento físico na suscetibilidade à síndrome metabólica dietética em um modelo murino.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar parâmetros metabólicos, biométricos e teciduais, tais como: peso corporal, peso tecidual relativo, glicemia de jejum, tolerância à glicose e resistência à insulina em todos os grupos experimentais;
- Mensurar o perfil lipídico plasmático (colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados e VLDL);
- Avaliar o perfil lipídico hepático: colesterol e fração VLDL, triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados;
- Avaliar as alterações morfo-funcionais e deposição qualitativa lipídica hepática através da análise histológica do fígado e mensuração sistêmica de marcadores de dano hepático (alanina aminotransferase e aspartatoaminotransferase);
- Mensurar a atividade sistêmica e hepática da enzima envolvida no equilíbrio redox, catalase;
- Mensurar a atividade hepática da enzima arginase.

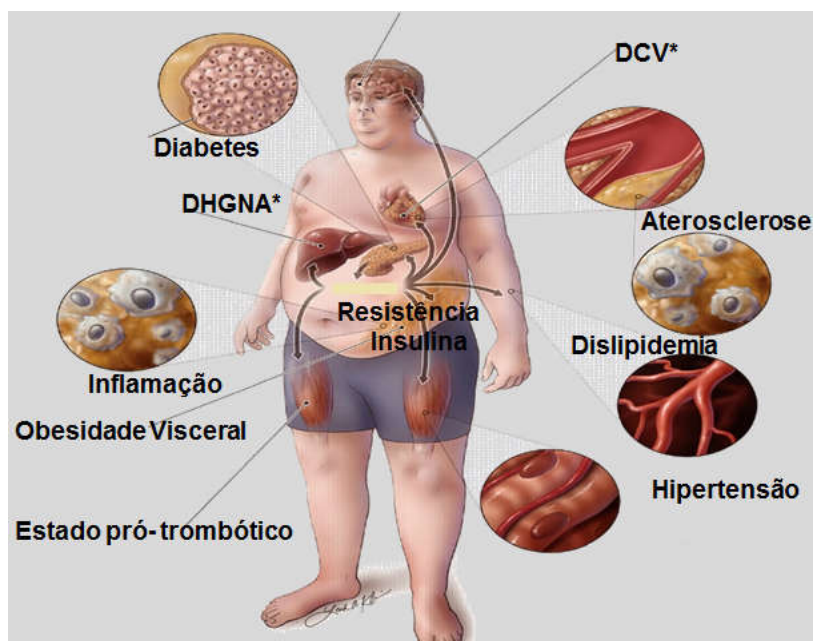
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Síndrome metabólica do conceito ao tratamento

3.1.1 Conceito

O termo SMet passou a ser utilizado em meados da década de 1990 (FREITAS et al, 2008) para designar uma doença complexa que envolve vários agravos, fatores de risco para doenças cardiovasculares, dentre eles: obesidade visceral (ALBERTI et al, 2009), dislipidemias, hipertensão, resistência à insulina (OMS, 1998; NCEP-ATP III, 2001), diabetes (IDF, 2005) e, mais recentemente, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (NUNES-SOUZA et al., 2016; FRAULOB et al., 2010; ANSTEEN e GOLDIN, 2006) (**Figura 1**).

Figura 1- Representação esquemática dos agravos da SMet.



Fonte: Autora. Adaptado de (RASK-MADSEN et al., 2012).

Notas: Agravos e fatores de risco para doenças cardiovasculares (*DCV): obesidade visceral, dislipidemia, estado pró-trombótico, hipertensão, resistência à insulina, inflamação, diabetes e doença hepática gordurosa não alcoólica (*DHGNA).

Entretanto, datam da década de 20 as primeiras suspeitas de correlação entre alguns desses componentes, mas foi somente em meados da década de 40, com

estudos de Jean Vague, que foi demonstrada a associação entre a obesidade e distúrbios metabólicos (MATSUZAWA *et. al.*, 2011; CORNIER *et. al.*, 2008; FREITAS *et. al.*, 2008). A partir daí verificou-se também um maior risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em obesos.

Até chegar ao conceito atual, a SMet recebeu outras denominações à medida em que as correlações entre os agravos foram evidenciadas. Inicialmente foi chamada de “Síndrome da obesidade visceral”, quando verificado que a dislipidemia com depósito de gordura, principalmente na região abdominal, predisponha a intolerância à glicose (FREITAS *et. al.*, 2008). Mas foi em 1988, na conferência *Banting Lecture* que Gerald Reaven sinalizou as implicações da resistência à insulina não somente em obesos, mas também em indivíduos não obesos com tolerância a glicose normal. Esta teria um papel central no metabolismo da glicose, dos lipídios e na hipertensão arterial ao qual se associou ao risco de doenças ateroscleróticas (REAVEN; CHEN, 1988). Reaven propôs o termo Síndrome X e a ocasião é vista como o marco para os estudos sobre a SMet.

Na sequência, ainda foi chamada de Quarteto mortal, Síndrome da resistência à insulina (CORNIER *et. al.*, 2008; MATSUZAWA *et. al.*, 2011), Síndrome plurimetabólica (CIOLAC; GUIMARAES, 2004) ou síndrome cardiometabólica (NEGRÃO *et. al.*, 2010). Na sua forma original, a referida síndrome inclui resistência à insulina, intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento do VLDL, de triglicérides, diminuição do HDL e hipertensão (FREITAS *et. al.*, 2008). Sabe-se hoje que há outras comorbidades associadas à SMet tais como: apneia do sono, problemas respiratórios, e vários tipos de câncer, a exemplo o endometrial, de mama e de próstata (NEGRÃO *et. al.*, 2010).

3.1.2 Critérios de Diagnóstico

Diante da complexidade da SMet, um dos maiores desafios passou a ser o seu diagnóstico, pois observou-se que não é necessária a presença de todos os agravos concomitantemente para que se estabeleça a doença. Com o intuito de facilitar as investigações, as organizações de saúde por todo o mundo passaram a estabelecer critérios para melhor identificação da síndrome e assim facilitar as investigações clínicas, epidemiológicas e de intervenção. Contudo, não há um consenso sobre esses critérios de diagnóstico, sendo a principal dificuldade, a

determinação do método para constatação da resistência à insulina;seguido das diferenças étnicas e regionais das populações, o que dificulta a prática clínica.Dentre os critérios mais usuais estão os da Organização Mundial da Saúde (OMS), os do “NationalCholesterolEducationProgram’sAdultTreatmentPanel III” (NCEP-ATP III) e os da “International Diabetes Federation” (IDF).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 1998) propôs os primeiros critérios de diagnóstico para a SMet.Neste, a doença seria identificada na presença da resistência à insulina associada a dois ou mais componentes dos quais: obesidade, dislipidemia, hipertensão arterial e microalbuminúria.No entanto, a complexidade do método para a determinação da resistência à insulina e o uso do teste de tolerância à glicose limita seu uso na prática clínica.

Em 2001, o NCEP-ATP III propôs a hiperglicemia de jejum somada a três ou mais componentes:obesidade, dislipidemia e hipertensão arterialpara a identificação da SMet, que pela praticidade do diagnósticopassou a ser a definição mais aceita.

A definição do IDF,em 2005, foi uma tentativa de unificar os critérios existentes considerando a etnia populacional e a obesidade central como principal critério para o diagnóstico da SMet conforme a **Tabela 1**.

Com base nas premissas elencadas,os principais critérios de diagnóstico para a Síndrome Metabólica de acordo com a OMS, NCEP-ATP III e IDF estão expressos na **Tabela 2**.

Tabela 1-Valores de circunferência da cintura conforme etnia para diagnóstico de Síndrome Metabólica (IDF, 2005).

| | Circunferência da Cintura | |
|-------------------------------------|---|---------|
| | Homem | Mulher |
| Europeus | ≥ 94 cm | ≥ 80 cm |
| Americanos | ≥ 102 cm | ≥ 88 cm |
| Sul-asiáticos | ≥ 90 cm | ≥ 80 cm |
| Chineses | ≥ 90 cm | ≥ 80 cm |
| Japoneses | ≥ 90 cm | ≥ 80 cm |
| Sul-americanos e central-americanos | Usar ponto de corte para sul-asiáticos | |
| Africanos | Usar ponto de corte dos europeus ate que dados específicos estejam disponíveis | |
| População mediterrânea e árabe | Usar ponto de corte dos europeus ate que dados específicos estejam disponíveis. | |

Fonte: "International Diabetes Federation" - IDF (2005).

Tabela 2- Critérios de diagnóstico para Síndrome Metabólica, segundo diferentes diretrizes.

| | OMS ¹ | NCEP-ATP III ² | IDF ³ |
|---|--|--|---|
| Resistencia à Insulina | DM 2 ⁴ , IGJ ⁵ ou glicose ≥ 110 mg/dL para indivíduos não diabéticos. | Glicemia de jejum ≥ 100mg/dL | Glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL ou Diagnóstico prévio de DM 2 ⁴ |
| Obesidade Central | RCQ ⁶ Homens > 0.90 Mulheres > 0.85 e/ou IMC ⁸ > 30 Kg/m ² | Homens CC ⁷ ≥ 102 cm Mulheres CC ≥ 88 cm | Definida de acordo com CC especifica por etnia ou IMC ⁸ ≥ 30 Kg/m ² |
| Dislipidemia | TG ⁹ > 150 mg/dL HDL ¹⁰ -colesterol Homens < 35 mg/dL Mulheres < 39 mg/dL | TG ⁹ ≥ 150mg/dL HDL ¹⁰ -colesterol Homem < 40 mg/dL Mulheres < 50 mg/dL | TG ⁹ > 150 mg/dL HDL ¹⁰ - colesterol Homens < 40 mg/dL Mulheres < 50 mg/dL |
| Pressão Arterial | ≥ 140/90 mmHg | ≥ 130/85 mmHg | ≥ 140/90 mmHg |
| Microalbuminúria Albumina/creatinina | ≥ 20 g/min ou ≥ 30 mg/g | | |

Fonte: Adaptado de ¹Organização Mundial de Saúde (1998); ²National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III" (2001); ³"International Diabetes Federation" (2005); ⁴Diabetes Mellitus; ⁵Intolerância à glicose em jejum; ⁶Relação Cintura

– Quadril; ⁷Circunferência da Cintura; ⁸Índice de Massa Corpórea; ⁹Triglicérides; ¹⁰ “*high density lipoprotein*” (lipoproteína de alta densidade).

3.1.3 Prevalência da SMet no Brasil

No Brasil, a miscigenação da população e a falta de consenso sobre os critérios de diagnóstico da citada síndrome, dificulta a identificação e as investigações epidemiológicas e de intervenção da mesma.

A prevalência mundial da SMet, entre a população adulta, varia de 25% a 35% (BORTOLETTO et al., 2014). Embora não haja dados dos órgãos de saúde sobre a prevalência da SMet na população brasileira, os estudos transversais (KUSCHNIR et al., 2016; SAAD et al., 2014; VIDIGAL et al., 2013) apresentam estimativas em diferentes populações no país, apesar das diferenças metodológicas quanto aos critérios de diagnóstico utilizados.

Em estudo realizado com adolescentes de 12 a 17 anos, em escolas das macrorregiões do Brasil (KUSCHNIR et al., 2016), a prevalência nacional foi de 2,6%, considerando os critérios de diagnóstico do IDF para crianças e adolescentes com até 15 anos (IDF, 2007), e em adolescentes com mais de 16 anos, utilizou-se os critérios IDF para adultos (IDF, 2005). Na população adulta, encontrou-se uma variação da prevalência entre 7,1%, em adultos jovens, e 56,9% em idosos (BORTOLETTO et al., 2014). Vidigal e colaboradores (2013) encontraram uma prevalência geral de 29,6% na população brasileira entre 19 a 64 anos com SMet, considerando critérios de diagnóstico do NCEP-ATP III. Quando considerada a população idosa, essa prevalência aumenta consideravelmente, e dependendo do critério de diagnóstico utilizado, varia entre 45,6% (NCEP-ATP III) a 68,9% (JIS – Joint Interim Statement).

Nos últimos anos, o Brasil passa por um período de transição epidemiológica, como crescimento significativo das DCNTs em relação às doenças infecciosas. Estas constituem um problema de saúde que responde por mais de 70% das causas de mortes no Brasil e também são responsáveis por gerar incapacidades e alto grau de limitação das pessoas doentes, com expressiva perda de qualidade de vida (IBGE, 2014).

Por constituir um sério problema de saúde pública, que gera alto custo para o sistema de saúde, as DCNTs tem impulsionado a busca por ações voltadas a sua prevenção e tratamento. O Programa de Vigilância de Fatores de Risco para

Doenças Crônicas Não Transmissíveis do Ministério da Saúde monitora a frequência e distribuição dos principais fatores de risco. Os inquéritos domiciliares, Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) são realizados a cada cinco anos, enquanto a Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) é realizada anualmente (IBGE; 2014).

Embora a SMet não seja evidenciada pelos programas de vigilância em saúde, possivelmente pela dificuldade de diagnóstico, o excesso de peso e a obesidade, principais causas da citada síndrome, têm sido abordados por esses programas com o propósito de desenvolver e fortalecer ações de cuidado das DCNTs.

Em 2004, uma comissão organizada por representantes da Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH), Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) e Associação Brasileira para o Estudo sobre a Obesidade (ABESO), elaborou a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da SMet (IDBSM, 2005).

O documento se baseia nos critérios de diagnóstico da OMS (1998), NCEP-ATP III (2001) e IDF (2005), mas recomenda a definição do NCEP-ATP III pela simplicidade e praticidade. Dispõe ainda de recomendações quanto à prevenção primária da SMet, ao preconizar a adoção de estilos de vida relacionados à manutenção da saúde, como dieta equilibrada, com baixo teor de gordura, principalmente aquelas saturadas, bem como à prática regular de atividade física, preferencialmente desde a infância; do tratamento não medicamentoso, que considera a realização de um plano alimentar associado ao exercício físico; do tratamento medicamentoso de comorbidades como a hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, dislipidemias e obesidade, como também de abordagem conjunta, considerando medidas terapêuticas tanto medicamentosas quanto não medicamentosas.

3.1.4 Fatores de risco para SMet

Segundo a OMS, cinco dos fatores de risco para DCNTs estão relacionados à alimentação e à atividade física: hipertensão arterial, hipercolesterolemia, ingestão insuficiente de frutas, hortaliças e leguminosas, sobrepeso ou obesidade e

inatividade física, dos quais três deles têm impacto no desenvolvimento da SMet (I-DBSM, 2005).

Uma alimentação com mais de 30% de gordura, provoca um processo inflamatório sistêmico presente em pessoas obesas (NOGUEIRA et al., 2017), além de comprometer a mobilização, a captação e oxidação de gordura pela desregulação da lipase lipoprotéica (LPL) e da lipase hormônio sensível (LHS) (FARIAS et al., 2013). Essa desregulação também ocorre com a diminuição da LPL no músculo esquelético ao passo que aumenta nos adipócitos, o que por sua vez inibe a LHS e diminui o metabolismo de gordura, aumentando seu armazenamento nos adipócitos (BROOKS et al., 2013).

A grande quantidade de gordura corporal, tanto de depósito de gordura visceral quanto de gordura subcutânea e muscular (NEGRÃO et al., 2010), relaciona-se à resistência à insulina (RI), principal componente da SMet. No entanto, a deposição de gordura na região abdominal apresenta um risco maior no desenvolvimento da RI, além de afetar o metabolismo hepático com a liberação de gordura diretamente na circulação portal (BROOKS et al., 2013). Além disso, o acúmulo de gordura no fígado pode progredir para a DHGNA, o que aumenta o risco de doença cardíaca isquêmica e diabetes mellitus (SINGH et al., 2015).

Essa liberação de ácidos graxos livres na circulação portal aumenta as concentrações de colesterol VLDL, comprometendo a degradação de triglicerídeos e estimulando a produção de LDL, resultando em dislipidemia, como também diminui a capacidade do fígado de depurar a insulina, causando hiperinsulinemia (BROOKS et al., 2013; NEGRÃO et al., 2010). Por outro lado, a persistência do estado hiperinsulinêmico resulta na RI e posteriormente em tolerância à glicose reduzida e DM2 (HIGA, 2012).

O DM2 por sua vez, pode causar complicações cardiovasculares como a hipertensão arterial sistêmica (BERGAMO, 2010), que também pode ser ocasionada por ingestão elevada de sal, o que aumenta o volume sanguíneo, assim como resistência vascular periférica. Em obesos, a razão do volume expandido do tecido acarreta diminuição da densidade capilar (BROOKS et al., 2011).

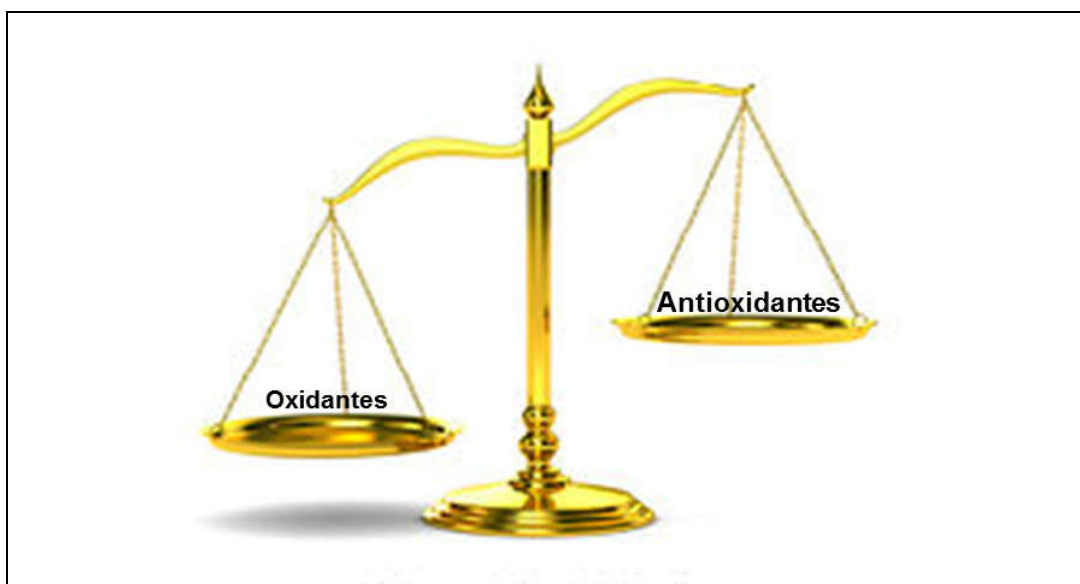
O aumento da massa corporal também acarreta desordens musculoesqueléticas como a osteoartrite e dores de coluna por modificações posturais (BROOKS et al., 2011). Além disso, há prejuízos na captação de glicose no músculo esquelético

decorrente da deposição de gordura no mesmo (BERGAMO, 2010; GUERRERO-ROMERO et. al., 2010).

O tecido adiposo desempenha um papel central na regulação do metabolismo energético, sendo responsável pelo armazenamento de energia, distribuição e mobilização de lipídeos e pela regulação homeostática da glicose(LUO; LIU, 2016). No entanto, o acúmulo de gordura também é responsável pelo aumento do estresse oxidativo, um importante mecanismo daSMet associado à obesidade(FARIAS et. al., 2013;FURUKAWA et al., 2004).

A geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidantes, durante os processos metabólicos, caracteriza o *Status Redox*, sendo o desequilíbrio dessa reação denominada de estresse oxidativo(SIES, 1985) (**Figura 2**).

Figura 2- Representação esquemática do desequilíbrio redox.

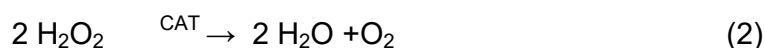
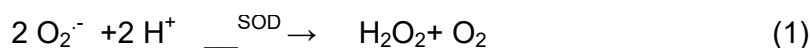


No desequilíbrio redox há maior geração de compostos oxidantes em detrimento dos antioxidantes ocasionando estresse oxidativo. Fonte: Autora, 2018, adaptado de Guedes, 2009.

A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico. Sua produção, em proporções adequadas, atua em várias reações bioquímicas necessárias e participa de mecanismos de defesa durante o processo de infecção. Porém, a produção excessiva pode resultar em danos oxidativos (BARBOSA et al.,

2010; SIES, 1997) como a morte das células β do pâncreas no diabetes tipo I, na injúria tecidual por perfusão após cirurgia e em algumas formas de câncer (BROOKS et.al.,2013).

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais, esse sistema pode ser enzimático constituído pelas enzimas: superóxido dismutase (SOD), que dismuta radicais superóxidos (1); a catalase, que por sua vez, degrada o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (2); e a glutatona peroxidase (GPX) que catalisa a redução de H_2O_2 com auxílio da glutatona reduzida (GSH) resultando em glutatona disulfeto (duas moléculas de glutatona) e água (3), e não enzimático que pode ser constituído por uma variedade de substâncias de origem endógena ou dietética (MENEZES-SILVA, 2016; BROOKS et al.,2013; BARBOSA et al., 2010; SIES, 1997).



No que tange as defesas antioxidantes não enzimáticas, estas incluem o ácido ascórbico (vitamina C), α tocoferol (vitamina E), retinol (vitamina A), o selênio, ubiquinona e os flavonoides (MENEZES-SILVA, 2016; BROOKS et.al.,2013).

O estresse oxidativo decorrente de espécies reativas não radicais está relacionado à elevada produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs). Essas espécies são produzidas naturalmente pelo metabolismo celular, e em condições adequadas auxiliam na defesa do organismo contra agentes infecciosos, sendo prejudiciais em excesso, ocasionando doenças como câncer, aterosclerose (MENEZES-SILVA, 2016) e outros distúrbios cardiovasculares, diabetes e doença de Alzheimer (MIRANDA, 2017).

A arginase, uma metaloenzima que hidroliza L-arginina para L-ornitina e ureia, pode ocasionar ação antioxidante ou pró-oxidante por está envolvida na biodisponibilidade de $^{\cdot}NO$, haja vista que sua diminuição desempenha papel importante na patogênese dos agravos cardiometabólicos (MENEZES-SILVA, 2016; RABELO et. al., 2015).

Quando do tecido adiposo, o estresse oxidativo está associado ao aumento de adipocinas pró-inflamatórias como TNF- α (“tumoral necrose fator α ”; fator de necrose tumoral α), interleucina-1 (IL-1 β) e interleucina-6 (IL-6) (LUO; LIU, 2016; FARIAS et. al., 2013), o que contribui para o aumento da RI e do DM2. Por outro lado, a inflamação crônica, também está associada a doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer, além de câncer de cólon e mama (MIRANDA, 2017).

Somando-se a isso, outro fator relevante envolvido no desenvolvimento da obesidade e distúrbios relacionados é a desregulação de Leptina, um hormônio da saciedade que regula o equilíbrio energético, a ingestão alimentar, e consequentemente, o peso corporal; além de modular o metabolismo de glicose e lipídeos. Alguns efeitos da leptina, in vitro, incluem a redução da ação da insulina nos hepatócitos, aumento da oxidação de ácidos graxos e depleção de triglicerídeos. Portanto, a leptina é um dos fatores responsáveis pelo controle de ações e sensibilidade à insulina (MORVAN et. al., 2009). Camundongos com deficiência de leptina apresentam aumento da ingestão de alimentos, hiperplasia, diminuição do dispêndio de energia e consequentemente obesidade grave de início precoce. Além disso, a leptina conduz as células- β pancreáticas à modulação da homeostase da glicose produzindo efeitos na secreção e expressão de insulina (LUO; LIU, 2016).

Portanto, a disfunção do tecido adiposo desempenha um papel proeminente no desenvolvimento da obesidade e distúrbios relacionados, como a resistência à insulina, doenças cardiovasculares, diabetes, depressão, câncer (LUO; LIU, 2016) e consequentemente para SMet.

3.1.5 Tratamento da SMet

Por se tratar de uma doença de fatores de risco inter-relacionados, a SMet apresenta um aumento de 2,5 vezes na mortalidade (VIDIGAL et. al., 2013; I-DBSM, 2005). O tratamento exige uma abordagem terapêutica preferencialmente associada a medidas não medicamentosas como o plano alimentar e a prática de exercício físico. No entanto, faz-se necessário utilizar medicamentos para o tratamento das comorbidades específicas (I-DBSM, 2005).

A I-DBSM, recomenda o tratamento medicamentoso como objetivo de reduzir a morbidade e a mortalidade, além de prevenir o agravamento metabólico. No que se refere ao tratamento não medicamentoso, a recomendação é de adoção de um plano

alimentar capaz de promover a redução sustentável do peso corporal inicial entre 5% e 10%, com ingestão de calorias e macronutrientes conforme **Quadro 1.**, associado à realização de exercício físico como indicado no **Quadro 2.** Além disso, sugere-se o controle das situações estressantes, cessação do fumo e controle na ingestão de bebida alcoólica.

Quadro 1- Plano alimentar recomendado para a SMet, segundo a I- DBSM.

| Calorias e macronutrientes | Ingestão recomendada |
|--------------------------------------|---|
| Carboidratos | 50% – 60% das calorias totais |
| Fibras | 20 g – 30 g/dia |
| Gordura total | 25% – 35% das calorias totais |
| Ácidos graxos saturados (AGS) | < 10% das calorias totais |
| Ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) | até 10% das calorias totais |
| Ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) | até 20% das calorias totais |
| Colesterol | < 300 mg/dia |
| Proteína | 0,8 g a 1,0 g/kg peso atual/dia ou 15% |

Adaptado da I – DBSM, 2005.

Em geral, a recomendação da I-DBSM para exercício físico por indivíduos com SMet é de pelo menos 30 minutos de atividade física leve à moderada de forma contínua ou acumulada na maioria dos dias de semana. Exige aumento das atividades diárias, bem como de atividades de lazer mais ativas.

Quadro 2 – Recomendações de exercício físico para indivíduos com SMet de acordo com a I-DBSM.

| | |
|-------------------|--|
| Tipo de Exercício | Exercício aeróbio (caminhada, ciclismo, corrida, natação, dança) |
| Frequência | 3 a 5 vezes/semana |
| Duração | 30 – 60min contínuos |
| Intensidade | Moderada (50% – 70% da FC de reserva ou 50% – 65% do VO ₂) |
| | |
| Tipo de Exercício | Exercícios resistidos (musculação, pilates) |

| | |
|-------------|--|
| Frequência | Em associação com os exercícios aeróbios |
| Duração | Não especificado |
| Intensidade | Com peso, até 50% da força máxima |

Adaptado da I-DBSM, 2005.

O treinamento físico para pessoas com SMet, ou mesmo obesas requer prescrição específica e supervisionamento cuidadoso, pois estas tendem a ter maior incidência de doenças cardiovasculares, e o exercício de alta intensidade pode resultar em um risco aumentado de mortalidade (NOGUEIRA et. al., 2017).

As pessoas acometidas pela SMet acima de 35 anos devem realizar uma avaliação clínica e ergométrica (teste de esforço) antes da prática de exercício físico, e para os participantes de programa de exercício físico individualizado, o teste ergométrico ou ergoespiométrico, obrigatoriamente (MORVAN et.al., 2009; I-DBSM, 2005).

Uma vez que o excesso de peso e a obesidade, considerados como principais causas da SMet, estão mais relacionados à inatividade física do que com a alimentação inadequada (SERTIÉ, 2010; NEGRÃO et. al., 2010; CIOLAC; GUIMARAES, 2004), o exercício físico é utilizado como um importante recurso terapêutico não medicamentoso, tanto para o tratamento quanto para prevenção (MIRANDA, 2017; ELEUTÉRIO-SILVA et. al., 2013; FARIAS et. al., 2012).

3. 2 Aspectos conceituais da Atividade Física e Exercício Físico

Os termos atividade física e exercício físico são frequentemente utilizados como sinônimos, no entanto, atividade física é definida como todo movimento corporal produzido por músculos esqueléticos que resultam em gasto energético, ou seja, são atividades do dia a dia. A atividade física pode ser classificada como atividades de lazer, atividades domésticas, laborais e de locomoção (MENEZES-SILVA, 2016; ACMS, 2014; CASPERSEN et. al., 1985).

Por outro lado, o exercício físico é um subtipo da atividade física, definido como toda atividade física planejada, estruturada e repetitiva, com intensidade, frequência e duração pré-determinadas com o objetivo de desenvolver, manter e/ou melhorar

componentes da aptidão física. Esses componentes podem estar relacionados à saúde, como aptidão cardiorrespiratória, flexibilidade, composição corporal e força e resistência muscular; ou relacionados ao desempenho esportivo, como agilidade, velocidade, coordenação, equilíbrio e potência (MENEZES-SILVA, 2016; ACMS, 2014; CASPERSEN et. al., 1985).

O exercício físico pode ainda ser dividido em anaeróbico e aeróbico, dependendo do substrato energético predominante utilizado para a realização do mesmo (MENEZES-SILVA, 2016). O exercício anaeróbico caracteriza-se por atividades de potência e velocidade que duram poucos segundos até um minuto e utilizam fontes de energia imediatas como ATP-CP (Adenosina Trifosfato – Creatina fosfato); glicose e glicogênio muscular, a exemplo o levantamento de peso e corrida de 100 a 400m respectivamente (BROOKS et. al., 2013). O exercício aeróbico caracteriza-se por exercícios de resistência, com duração acima de dois minutos e sua fonte energética é proveniente de mecanismos oxidativos: glicogênio muscular e hepático, glicose e lipídios. Como exemplo a maratona (BROOKS et. al., 2013).

Datam do final do século XIX os primeiros estudos sobre a atividade física como meio de promoção da saúde (NOGUEIRA et. al., 2017), desde então um volume crescente de investigações busca desvendar os mecanismos fisiológicos da atividade física e do exercício físico e os seus efeitos para a saúde, considerando a prevenção e o tratamento de doenças.

A atividade física e/ou exercício físico promovem adaptações fisiológicas em diversos órgãos e sistemas que resultam em uma melhoria da qualidade de vida (SERTIÉ, 2010; CIOLAC; GUIMARAES, 2004). Exercícios regulares aumentam a capilaridade muscular, levando a uma melhora da capacidade oxidativa (MOTTA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2012) e induzem adaptações cardiovasculares como bradicardia, diminuição da pressão arterial, mesmo em indivíduos com predisposição à hipertensão (MORVAN et. al., 2009).

Os exercícios físicos aeróbicos tem efeito lipolítico por aumentar a mobilização de ácidos graxos em função da demanda energética aumentada (SERTIÉ, 2010), aumentam os níveis de colesterol HDL e diminuem os níveis de triglicérides, LDL e VLDL. Além disso, aumentam a atividade das enzimas LPL e HSL, diminui o tamanho dos adipócito e melhoram sua resposta à insulina (SOUZA, 2011).

Pessoas com resistência à insulina melhoram a sensibilidade em 22% após a primeira sessão de exercícios e em 42% após seis semanas de

treinamento(MORVAN et. al., 2009).O aumento da sensibilidade à insulina pelo exercício é independente da redução de peso e mudanças na composição corporal. Ademais, há indicações de que o exercício físico diminui a resistência à insulina no fígado e aumenta a sinalização e a captação de glicose nos adipócitos (SOUZA, 2011).

O exercício físico também exerce influência sobre o equilíbrio entre ataque oxidativo e os mecanismos de defesa antioxidante. Durante os exercícios físicos, principalmente de resistência, ocorre formação de EROS. No entanto, com o intuito de proteger os tecidos contra os danos causados por estas EROS, enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPX/GR respondem de maneira adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de indivíduos treinados(PRADA et. al., 2004).

A arginase é outra enzima que pode ocasionar ação antioxidante, mas também pode ser pró-oxidante, isto por que está envolvida na biodisponibilidade de óxido nítrico(\bullet NO), importante agente nos mecanismos de vasodilatação (MENEZES-SILVA, 2016; RABELO et. al., 2015; PERNOW; JUNG, 2013).

A arginase e a eNOS utilizam a L-arginina como substrato, sendo assim, o aumento da atividade da arginase pode reduzir a disponibilidade de L-arginina para a NO sintase, reduzindo a produção de \bullet NO, aumentando a formação de EROS e levando à disfunção endotelial (PERNOW; JUNG, 2013).

O aumento da atividade e expressão de arginase desempenha papel importante na patogênese dos agravos cardiovasculares (MENEZES-SILVA, 2016; RABELO et. al., 2015; PERNOW; JUNG, 2013) ao ponto que a inibição da arginase aumenta a biodisponibilidade de \bullet NO, reduz o estresse oxidativo e melhora a função vascular (PERNOW; JUNG, 2013).

O exercício físico aeróbico também estimula a liberação de \bullet NO das células endoteliais, e embora haja evidências consideráveis mostrando a associação do treinamento físico e \bullet NO, existem poucos relatos demonstrando a associação do treinamento físico com arginase.(TSUKIYAMA et. al, 2017).

TSUKIYAMA e colaboradores (2017) verificaram que a atividade da arginase aumentou paralelamente ao aumento do nível de exercício, e que o exercício físico aeróbico induziu um aumento transitório nas EROS das mitocôndrias, o que induziu o coativador de transcrição nuclear, PGC1 α / β a ativar vários fatores de transcrição nuclear, incluindo o PPAR γ e seus alvos, superóxido dismutase (SOD) 1, SOD2,

glutathionperoxidase (GPx) 1 e catalase (CAT), resultando na ação de enzimas endógenas de defesa de EROs no músculo esquelético, indicando que após a intervenção com treinamento físico aeróbico houve aumento da capacidade anti-oxidativa.

Em vista do exposto, sugere-se que o exercício físico aeróbico é um recurso para a proteção das células contra o estresse oxidativo e um fator importante para a prevenção de DCV por aumentar a biodisponibilidade de •NO intrínseco e a atividade de enzimas anti-oxidantes (TSUKIYAMA et. al, 2017). Por sua vez, é utilizado para melhorar a qualidade de vida e diminuir as taxas de mortalidade associadas à SMet(MORVAN et. al, 2009).

3.3 Modelos animais para a SMet e Exercício Físico

Os animais são utilizados em pesquisa mesmo antes de Cristo com cientistas como Aristóteles, Galeno e Hipócrates que procuravam em várias espécies as semelhanças e diferenças entre os órgãos dos animais e do homem para entender processos patológicos que afetavam a espécie humana, com a chamada 'patologia comparada'. Os modelos animais podem ser comparados com o homem, baseado nas semelhanças anatômicas e fisiopatológicas(ANDRADE et. al, 2002).

Por depender de técnicas invasivas, o estudo de mecanismos fisiológicos nem sempre é possível de ser realizado em humanos, por isso, têm-se como opção a utilização de modelos animais(MENEZES-SILVA, 2016)que podem ajudar os estudos relacionados à pesquisa clínica(MOTTA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2012).

Os camundongos (*Mus musculus*) passaram a ser mais utilizados nas pesquisas por apresentarem seu genoma muito parecido com o do ser humano, aproximadamente 99% (WATERSTON et. al., 2002), além de serem pequenos, muito prolíferos, ter período de gestação curto, ser de fácil manipulação e manutenção(ANDRADE et. al, 2002;CHORILLI et. al., 2007).

Além disso, o genoma do camundongo pode ser facilmente modificado para reproduzir doenças e disfunções observadas em humanos (CHORILLI et. al., 2007) como também é possível identificar os genes envolvidos na adaptação de exercícios agudos e crônicos(KREGEL et. al, 2006).

O modelo genético para obesidade é o LEP^{OB}, cujos animais não possuem a proteína leptina, apresentam hiperfagia, hiperglicemia, intolerância à glicose,

hiperinsulinemia, aumento no número e tamanho dos adipócitos e aumento de peso em até três vezes a mais que o peso normal em quatro semanas(ANDRADE et. al., 2002; CHORILLI et. al., 2007).

Outra forma bastante utilizada para reproduzir a obesidade em camundongos é por ingestão de dieta hipercalórica com alto teor de gordura(NUNES-SOUZA et. al., 2016;FRAULOB et. al., 2010; GUEDES, 2009). O modelo dietético para a SMet é amplamente utilizado por se aproximar do padrão dietético dos indivíduos acometidos pelo agravo, tanto os roedores quanto os humanos tendem a ganhar peso com alta ingestão calórica (NOVELLI et. al., 2007).Como dito anteriormente, a maioria dos componentes da SMet estão relacionados à alimentação inadequada e à inatividade física. O exercício físico promove alterações em praticamente todos os órgãos e tecidos do corpo, contribuindo com muitos benefícios para a saúde; assim como a falta de exercício implica em muitos problemas crônicos de saúde (KREGEL et. al,2006).

Dentre os modelos experimentais de exercício estão os de esteira rolante, da roda de exercício voluntário e da natação, cada modelo apresenta diferenças no desempenho, também relacionado à espécie animal utilizada(KREGEL et. al, 2006). Camundongos C57BL/6 estão entre as piores espécies para a prática de exercício em esteira rolante, pois o treino prolongado pode afetar suas articulações.Juntamente com o grau de controle de variáveis como a intensidade,por parte do pesquisador, e o custo financeiro, estes aspectos definem a escolha do modelo experimental(KREGEL et. al, 2006).

Além de diferentes modelos experimentais de exercício, há uma variedade de protocolos que diferem entre si na duração (quantidade de semanas) e nas sessões de treinamento (minutos/sessões), na frequência (MENEZES-SILVA, 2016) e na intensidade(CAMPOS et. al.,2014; EVANGELISTA et al., 2003). Contudo, a escolha do protocolo depende do objetivo do estudo, no que se refere aos aspectos agudos ou crônicos da adaptação ao exercício(KREGEL et. al, 2006),e do resultado esperado,a exemplo condicionamento físico (PRADA et. al., 2004), recuperação cardíaca e anti-inflamatória(PUHL et. al., 2015), tratamento de DHGNA, obesidade e resistência à insulina(SCHULTZ et al., 2010).

De acordo com American Psychological Association (KREGEL et. al, 2006), os roedores são mais utilizados em experimentos utilizando a natação como modalidade de exercício, principalmente, por apresentar uma capacidade inata de

nadar. Uma das principais vantagens do exercício de natação é o recrutamento de um grande volume de massa muscular, com adaptações extensivas ao sistema cardiovascular. Além disso, a natação requer aparelhos menos dispendiosos e a duração e a carga do exercício podem ser controladas.

Evangelista e colaboradores (2003) avaliaram diferentes protocolos de natação considerando intensidade, frequência e duração do treinamento físico com natação para designar um protocolo capaz de promover ajustes aeróbicos e hipertrofia cardíaca fisiológica em camundongos C57BL / 6J.

Diante do exposto, o protocolo testado por Evangelista e colaboradores (2003) (com duração de 4 semanas, 5 dias por semana, 2 vezes por dia, sem carga adicional) foi utilizado no presente estudo por estimular respostas do metabolismo aeróbico, com intensidades de moderada a alta para camundongos, sem necessidade de sobrecarga e estar associado a benefícios para a saúde em geral que respondem às necessidades de tratamento da SMet.

3.4 Destreinamento e a suscetibilidade à SMet

Ao contrário do sedentarismo, que trata da falta de atividade física, o termo destreinamento refere-se à interrupção do treinamento físico por tempo suficiente para diminuição do desempenho desportivo e/ou aptidão física (MUJIKÁ; PADILHA, 2000). Essa interrupção é também diferente do intervalo relacionado ao descanso necessário entre as sessões de treinamento, ou entre as repetições do exercício, este é fundamental para que haja adaptação fisiológica, a qual, por sua vez promoverá melhora na aptidão física e no desempenho desportivo (MONTEIRO; NEIRA, 2011).

Dentre os princípios do treinamento físico, o da reversibilidade afirma que enquanto o treinamento físico pode aumentar o desempenho, o destreinamento reduzirá (BROOKS et. al., 2013; MONTEIRO; NEIRA, 2011; MUJIKÁ; PADILHA, 2000). A suspensão ou redução do treinamento físico reajusta os sistemas corporais, de acordo com a diminuição do estímulo fisiológico, o que leva o indivíduo destreinado por períodos prolongados a condições próximas a de um sedentário (MONTEIRO; NEIRA, 2011).

Em estudo de 12 semanas de destreinamento em atletas com regularidade de treinamento, Coyle e colaboradores (1984) observaram declínio do volume sistólico

de 10% a 14% que implicou em rápida perda de condicionamento cardiovascular, enquanto que o VO_2 máx teve uma queda de 7% na primeira semana de destreino, estabilizando-se em um nível 16% abaixo do nível de treinamento, e embora o débito cardíaco e o volume sistólico tenham sido reduzidos, o VO_2 máx permaneceu em 17% acima dos níveis de um sedentário. A maioria das adaptações ocorreram no intervalo de 8 semanas, incluindo aumento de 18% no consumo de oxigênio e de 17% na frequência cardíaca, mas o maior declínio ocorre durante a primeira semana de destreino.(MONTEIRO, 2011; NIEMAN, 2011; MUJIK; PADILLA, 2000).

Interessantemente, mesmo após 12 semanas de destreino, os atletas apresentaram alto nível de densidade capilar com queda de apenas 7%, o que indica adaptações persistentes, que segundo estudos podem ser mantidos reduzindo a frequência de prática de exercícios e aumentando a intensidade (NIEMAN, 2011; MONTEIRO, 2011).

O treinamento aeróbico e o destreino tem o potencial de alterar, não apenas dimensões cardíacas(EVANGELISTA; BRUM,1999), mas também contratilidade miocárdica, pré-carga e pós-carga durante o repouso e condições de exercício (NEUFER, 1989).

Tradicionalmente conhecida como “memória muscular”, o aumento de núcleos musculares adquiridos com hipertrofia pode permanecer após meses de destreino e parece não ser dependente da manutenção da hipertrofia. O aumento de mionúcleos posteriormente retarda a atrofia pelo destreino, e conseqüentemente proporcionam um retorno mais rápido aos níveis de força do início do treinamento(BRUUSGAARD et. al., 2010). No entanto, a diminuição do potencial metabólico muscular ocorre em dias ou semanas após a cessação do treinamento(NEUFER, 1989).

Atletas destreinados mostram um declínio inicial rápido na atividade enzimática oxidativa no músculo(NEUFER, 1989).Evidências confirmam que no destreino há uma maior dependência de carboidratos como substrato de energia e diminuição do metabolismo lipídico (BAE et. al., 2017; MUJIK; PADILHA, 2000).

A cessação do treinamento físico também resulta em rápido acréscimo da massa adiposa e ganho de peso. O aumento da ingestão calórica leva a um acréscimo da massa adiposa, que está relacionada ao aumento da atividade lipogênica(BAE et. al., 2017; SOUZA, 2011; PAULI, 2007).

Atualmente, tem-se destacado a propriedade do tecido adiposo branco (TAB) em secretar citocinas pró-inflamatórias produzidas e secretadas pelos adipócitos, dentre elas o TNF α , que se correlaciona negativamente com o metabolismo da glicose induzindo a resistência à insulina (SOUZA, 2011; TRAYHURN; BEATTIE, 2001; HOTAMISLIGIL et al., 1995). Mesmo o destreino de curto prazo é suficiente para diminuir a ação da insulina (DIRKS et al., 2016; PAULI, 2007).

Nessas condições, o aumento da adiposidade provocada pelo destreino é capaz de desenvolver o diabetes e a obesidade. Em estudo de 4 semanas de destreino, Souza (2011) verificou que os animais destreinados aumentaram a ingestão alimentar e tiveram um incremento de massa adiposa epididimal superior aos grupos treinados e sedentários, indicando que o destreino é capaz de provocar uma rápida diminuição na atividade da enzima LPL, no tecido muscular e aumento da atividade no tecido adiposo o que contribui para disponibilização de ácidos graxos que podem ser acumulados em forma de triglicérides. (SOUZA, 2011).

Considerando que o aumento do peso corporal e da adiposidade ocasionado pelo consumo de dieta com alto teor de gordura, também observados em condições de destreino, independente da dieta, está relacionado às dislipidemias, a DHGNA e a resistência à insulina e podem progredir para a SMet, o presente estudo teve como objetivo avaliar se o destreino físico aumenta a suscetibilidade à SMet dietética em camundongos C57BL/6.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

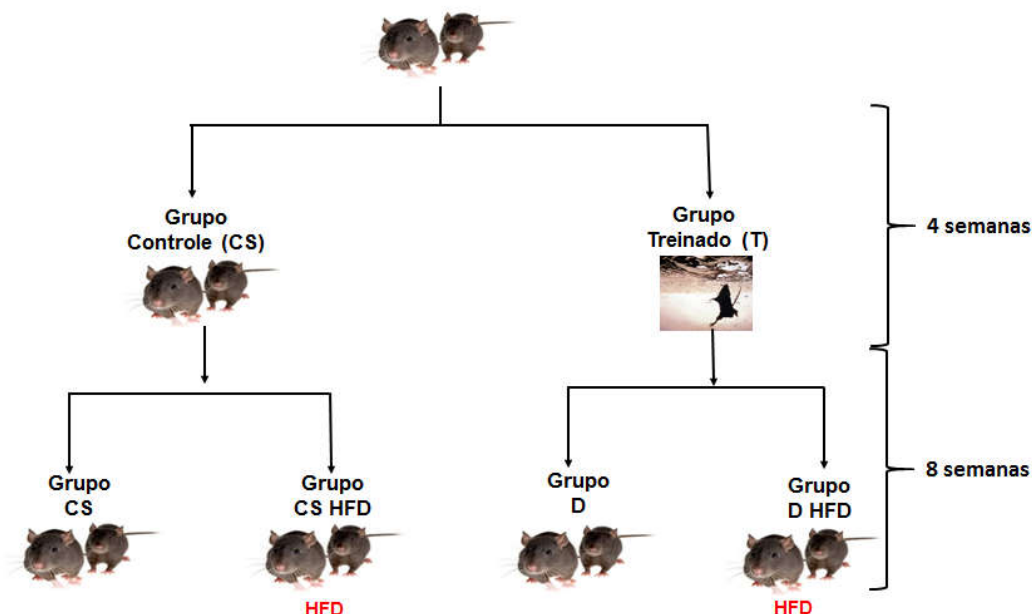
4.1 Animais e delineamento experimental

Os animais, camundongos C57BL/6 machos provenientes do Biotério Central (BioGen) da UFAL, foram mantidos no Laboratório Experimental (LabExp) do Laboratório de Reatividade Cardiovascular (LRC/ICBS-UFAL) sob condições de ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura de $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com exaustor de baixo ruído e dieta e água “*ad libitum*”. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFAL (Protocolo 070/2014).

Com idade entre 10-12 semanas, os animais foram randomicamente divididos em quatro grupos experimentais de gaiolas coletivas:

- Grupo controle sedentário (CS “chow”; n=4), que não foi submetido ao protocolo de natação e cujos animais foram alimentados com dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP) durante todo período experimental;
- Grupo destrinado(D“chow”; n=5), que foi submetido ao protocolo de natação e cujos animais foram alimentados com dieta padrão(Nuvilab[®] São Paulo - SP) durante todo período experimental;
- Grupo controle sedentário + HFD (CSHFD; n=6), que não foi submetido ao protocolo de natação e os animais foram inicialmente alimentados com dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP) e após 4 semanas, alimentados com dieta hipercalórica (HFD – “high fat diet”, com ~58,4% das calorias provenientes de lipídios saturados) (Nunes-Souza, et al., 2016);
- Grupo destreinado + HFD(D HFD; n=5), que foi submetido ao protocolo de natação e foram alimentados com dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP) durante o período de treinamento; e posteriormente foram alimentados com dieta hipercalórica(HFD – “high fat diet”, com ~58,4% das calorias provenientes de lipídios saturados), durante o período de destreinamento.**Figura 3.**

Figura 3- Representação esquemática do delineamento experimental.



Divisão randômica dos grupos. Inicialmente, durante as 4 semanas do protocolo de natação, dois grupos treinados e alimentados com dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP) e dois grupos controle sedentários alimentados com dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP); posteriormente, os quatro grupos, em inatividade física, dois grupos continuaram a ingerir dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP), CS e D; dois grupos passaram a ingerir dieta HFD (Nunes-Souza, et al.,2016), CS HFD e DHFD.

4.2 Dieta hipercalórica

A dieta hipercalórica oferecida aos animais sob a forma de *pellet* foi manipulada e padronizada no LRC (NUNES-SOUZA et al., 2016) contendo 58,4% das calorias provenientes dos lipídios saturados, 26,6% de carboidratos e 15% de proteínas. A dieta padrão(Nuvilab[®]São Paulo - SP) continha 14% das calorias provenientes dos lipídios, 63% de carboidratos e 23% de proteínas. A **Tabela 3** mostra a composição dos macronutrientes das dietas utilizadas, sendo ilustradas na **Figura 4**.

Tabela 3-Distribuição do percentual calórico dos macronutrientes das dietas padrão e hipercalórica.

| Macronutriente | Dieta padrão | Dieta hipercalórica |
|---------------------------|--------------|---------------------|
| Carboidratos (% calórico) | 63,0 | 26,6 |
| Proteínas (% calórico) | 23,0 | 15,0 |
| Lipídios (% calórico) | 14,0 | 58,4 |

Fonte: (NUNES-SOUZA, et al., 2016).

A



B



Figura 4 – (A) dieta padrão para roedor; (B) dieta hipercalórica.

4.3 Treinamento

O treinamento foi realizado em tanque aquático de vidro (**Figura 5**), com divisão de raias individuais sob temperatura controlada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) (EVANGELISTA et. al., 2003). Os grupos D “chow” e D HFD passaram por adaptação ao treinamento durante uma semana, onde o tempo das sessões, iniciado em 20 minutos, foi aumentado gradualmente de 10 em 10 minutos até atingir aquele estipulado no protocolo, 90 minutos. Os grupos CS “chow” e CS HFD foram mantidos no tanque aquático por apenas 5 minutos com o intuito de mimetizar o estresse causado aos animais pelo contato com a água. O protocolo de treinamento teve duração de 04 semanas, com frequência de cinco dias semanais, duas vezes ao dia, com 90 minutos por sessão, em horário pré-estabelecido (1ª sessão iniciando entre 11h30min e 12h; 2ª sessão iniciando entre 16h30min e 17h), respeitando o intervalo de descanso de 4 horas entre as sessões, conforme calendário de treinamento no **Quadro 3**. Após o período de natação, os animais dos grupos D “chow” e D HFD

ficaram em inatividade física por 8 semanas, período no qual os grupos CSHFD e D HFD passaram a ingerir dieta hipercalórica (HFD – “high fat diet”, com ~58,4% das calorias provenientes de lipídios saturados).

Figura 5- Tanque aquático de vidro. Foto de acervo próprio.



Tanque aquático de vidro, com divisão de raias individuais sob temperatura controlada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$).

Quadro3 - Calendário de treinamento. Período de adaptação do 1º ao 7º dia; Período de treinamento do 8º ao 20º dia.

| | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|----------------------|----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------|
| Semana 1 | Dia 1 20' | Dia 2 30' | D | Dia 3 40' | Dia 4 50' | Dia 5 60' | D |
| | | | E | | | | E |
| Semana 2 | Dia 6 70' | Dia 7 80' | S | Dia 8 90' | Dia 9 90' | Dia 10 90' | S |
| | | | C | | | | C |
| Semana 3 | Dia 11 90' | Dia 12 90' | A | Dia 13 90' | Dia 14 90' | Dia 15 90' | A |
| | | | N | | | | N |
| Semana 4 | Dia 16 90' | Dia 17 90' | S | Dia 18 90' | Dia 19 90' | Dia 20 90' | S |
| | | | O | | | | O |

Nota: O descanso sempre em dias de quarta-feira e domingo.

4.4 Avaliações invivo

4.4.1 Ingestão alimentar e peso corporal

A ingestão líquida e sólida dos animais foi mensurada três vezes por semana em balança semi-analítica (0,001 g; Shimatzu® Barueri – SP, Brasil) durante todo o protocolo experimental, sempre no mesmo horário, ao final da tarde. Ao final do período experimental foi realizada uma estimativa da quantidade de alimento sólido ingerida por cada animal, normalizada pelo peso corporal dos animais, ou seja, a média de consumo semanal foi dividida pelo peso de cada animal.

O peso corporal dos animais foi mensurado em balança semi-analítica (0,001 g; Shimatzu® Barueri – SP, Brasil), uma vez por semana, nos mesmos dias e horários durante todo o protocolo experimental.

4.4.2 Glicose de jejum

Os níveis de glicose foram mensurados com aparelho Accu-ChekPerforma® (Roche® São Paulo– SP, Brasil) nos tempos T0, antes do protocolo de treinamento, T1 ao término do protocolo de treinamento e antes da oferta de dieta hipercalórica, T2 após quatro semanas de oferta de dieta hipercalórica e T3 ao final de oito semanas de oferta de dieta hipercalórica. A glicemia foi avaliada após um período de jejum noturno de 12 horas por meio de um pequeno corte na ponta da cauda do animal para a coleta de sangue a partir da veia caudal.

4.4.3 Avaliação da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina

O teste de tolerância à glicose foi realizado com os animais em jejum noturno de 12 horas. 30 minutos antes do teste, os animais foram pesados e foi verificada a glicemia de jejum em aparelho Accu-Chek® Performa (Roche® São Paulo– SP, Brasil). O teste se deu pela aplicação intraperitoneal de 2 g de glicose.kg⁻¹ do peso corporal mensuração dos níveis glicêmicos nos intervalos de 15, 30, 60, 90 e 120 minutos (NUNES-SOUZA et. al, 2016).

Dois dias depois do teste de tolerância à glicose foi realizado o teste de sensibilidade à insulina. Os animais foram mantidos no estado alimentado, 30 minutos antes do teste, os animais foram pesados e foi verificada a glicemia em

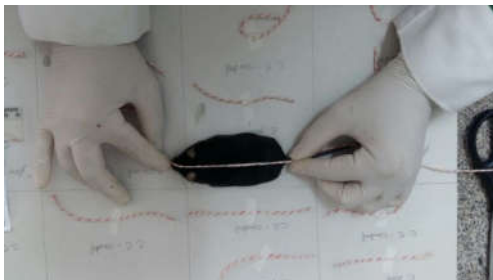
aparelho Accu-Chek®Performa(Roche®São Paulo– SP, Brasil). Foi feita a aplicação intraperitoneal de 0,75 U de insulina/kg do peso corporal. A insulina utilizada foi de ação rápida (Humulin®São Paulo – SP, Brasil). Os níveis de glicose foram avaliados, assim como no teste supracitado nos intervalos de 15, 30, 60, 90 e 120 minutos.

4.5 Eutanasiados animais

Após o término do protocolo de indução da SMet dietética (NUNES-SOUZA et. al., 2016) em período de destreinamento, os animais foram submetidos a jejum noturno de 12 horas, foram anestesiados com cetamina/xilasina (110/10 mg/kg; i.p.), tomou-se a medida de comprimento nasoanal, para o cálculo do índice de Lee, descrito abaixo(**Figura 6**) e em seguida, foram sacrificados por punção cardíaca. O sangue coletado durante a punção foi armazenado em tubos tipo “eppendorf®”(São Paulo – SP, Brasil) de 1,5 mL com 2 µl de heparina (25 UI/mL). Em seguida, foram centrifugados a 3500 rpm por 10 minutos a 4°C para a separação do plasma e dos eritrócitos. Na sequência, coletaram-se o fígado, coração, pulmões, rins, intestino e músculos gastrocnêmio e sóleo, cérebro, tecido adiposo marrom, tecido adiposo epididimal, perirenal e mesentérico. Os órgãos foram pesados em balança semi-analítica (0,001 g; Shimatzu®Barueri – SP, Brasil) e armazenados em freezer –80° juntamente com o plasma e eritrócitos. Fragmentos do lobo direito do tecido hepático foram destinados ao processamento histológico. A tíbia direita foi removida para medida do comprimento em paquímetro (Tramontina®Carlos Barbosa- RS, Brasil) a fim de avaliar o crescimento animal e normalização do peso tecidual.

O índice de Lee, associado a outros dados antropométricos e metabólicos, é utilizado para a determinação da obesidade em murinos e consiste na divisão da raiz cúbica do peso corporal (g) pelo comprimento nasoanal (cm) e multiplicado por 1000 (MALAFAIA et. al, 2013; NOVELLI et. al, 2006).

Figura 6 - Comprimento nasoanal (Comprimento do focinho ao início da cauda do animal em cm).



Fonte: Autora, Foto de acervo próprio.

4.6 Peso relativo tecidual

Todos os tecidos retirados foram normalizados pelo comprimento da tíbia, utilizando a equação (Peso Tecidual (g) /Comprimento da Tibia (mm)x 100 (YIN *et al*, 1982) onde o peso do tecido foi dividido pelo comprimento da tíbiado animal e multiplicado por 100, sendo os resultados demonstrados em percentual.

4.7 Avaliações sistêmicas e hepáticas

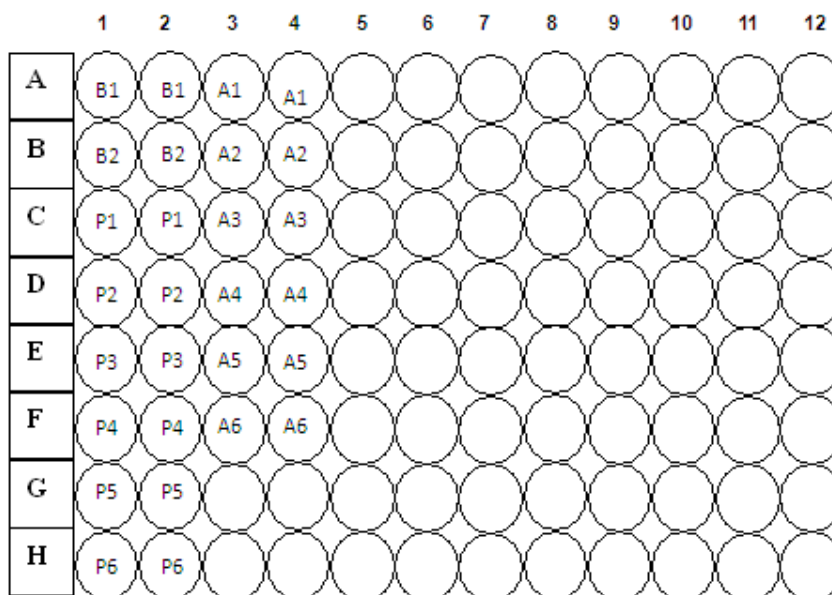
4.7.1 Avaliação do perfil lipídico plasmático

Os níveis de colesterol e triglicerídeos plasmático, assim como os ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram mensurados por meio de *kit* comercial (Labtest® Belo Horizonte-MG, Brasil) adaptado para microplaca, conforme esquema da **Figura 6**. As amostras de plasma (12 µL), foram diluídas em tampão PBS 0,01 M na proporção de 1:50 para colesterol e triglicerídeos. Adicionou-se à microplaca 100 µL da amostra diluída, em seguida, 100 µL do reagente para cada teste (colesterol e triglicerídeos) e 100 µL dos padrões para cada teste. Após incubação à 37°C durante 10 minutos, a absorbância foi determinada em leitor para microplaca (ThermoScientific® São Paulo – SP, Brasil) no comprimento de onda de 492 nm. As concentrações de VLDL foram estimadas ($VLDL = TG/5$) utilizando as equações de Friedewald (FRIEDEWALD *et al.*, 1972).

Para quantificação dos AGNE plasmático foi utilizado 10 µL de plasma em diluição. Adicionou-se 5 µL de amostra em cada poço, em seguida 150 µL do Reagente 1. Após incubação à 37°C por 3 minutos adicionou-se 75 µL do Reagente 2 e incubou por mais 4 minutos e 30 segundos a 37°C para determinação da absorbância em leitor para microplaca (ThermoScientific® São Paulo – SP, Brasil)

nos comprimentos de onda de 546 e 660nm. O resultado foi obtido pelo cálculo da equação da curva padrão de AGNE pela equação da reta.

Figura 7- Esquema para dosagem em microplaca.



4.7.2 Avaliação dos marcadores de dano hepático

Para a mensuração dos níveis de alanina aminotransferase (ALT) e aspartatoaminotransferase (AST) foram utilizados “kits” (Labtest[®], Belo Horizonte-MG, Brasil). As amostras de plasma, 10µL foram diluídas na proporção 1:4. Adicionou-se 20µL da amostra diluída em cada poço, em seguida 200 µL do reagente de trabalho. As leituras foram realizadas em leitor para microplaca (ThermoScientific[®] São Paulo – SP, Brasil) no comprimento de onda de 340nm nos tempos 0, 1, 2, 5 e 15 minutos a 37°C. Além da atividade de cada enzima separada, avaliou-se também a razão entre elas, AST/ALT.

4.7.3 Avaliação do perfil lipídico hepático

Para a determinação do perfil lipídico hepático, fez-se necessário a extração de lipídios totais dos hepatócitos. Para isso, utilizou-se a técnica descrita por Folch e colaboradores (1957). Sucintamente, aproximadamente 100 mg de tecido hepático foi triturado em solução de clorofórmio:metanol (CHCl₃:MeOH - na proporção 2:1). O

homogenato obtido foi centrifugado após a adição de 400 µL de MeOH, a 3000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente. Na sequência, o sobrenadante reservado em tubo previamente pesado. Acrescentou-se 800 µL de CHCl₃ e 640 µL de cloreto de sódio (NaCl 0,73%) e, novamente foi realizada uma centrifugação nas condições anteriormente descritas, sendo a fase inferior utilizada para a etapa seguinte, que consistiu na lavagem desta com 600 µL de solução de Folch (3% de CHCl₃, 48% de MeOH, 47% de água destilada e 2% de NaCl a 0,29%) por três vezes. Após cada procedimento de lavagem, os tubos foram submetidos a uma nova centrifugação e o sobrenadante, desprezado. Os tubos foram mantidos em estufa 37 °C, *overnight*, para obtenção dos extratos lipídicos que foram quantificados gravimetricamente em balança analítica e normalizados pelo peso tecidual hepático total.

Os extratos lipídicos obtidos, por sua vez, foram ressuspensos e homogeneizados em 500 µL de isopropanol. Este foi utilizado para a mensuração do nível de triglicerídeos e colesterol no tecido hepático, seguindo a mesma metodologia descrita no item 4.7.1, diferindo nas proporções de diluição, que foram de 1:10 para colesterol, e 1:50 para triglicerídeos.

Para quantificação dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) hepático foi utilizado 10 µL do extrato lipídico de fígado diluído em PBS na proporção 1:10 e seguiu-se a mesma metodologia descrita no item 4.7.1.

4.7.4 Avaliação histológica hepática

O processamento histológico foi realizado em colaboração com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O lóbulo direito do fígado obtido após a eutanásia dos animais, foram fixados por imersão em formalina tamponada 10% por, no máximo, 16 horas. As amostras foram incluídas em parafina seguindo o protocolo LRC, e em seguida foram seccionadas em micrótomo manual (Leica[®] Wetzlar, Alemanha), tendo-se de 4-6 µm como padrão para a espessura de corte. Em seguida, as lâminas foram devidamente coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e análise morfológica realizada em microscópio óptico de luz (Olympus[®] Shinjuku, Tóquio, Japão) no aumento de 400x. Os resultados representativos foram expressos por grupo experimental.

4.7.5 Mensuração da atividade da catalase plasmática e hepática

Para a mensuração da atividade das enzimas envolvidas no equilíbrio “redox”, fez-se necessário a obtenção de homogenato hepático. Para isso, aproximadamente 100mg do tecido hepático de cada animal foi homogeneizado em tubo de plástico de 1mL com o volume correspondente de Ripa Buffer (1:10) e coquetel de inibidores, mantidos em gelo durante todo o processo. A cada dez amostras homogeneizadas, mixadas em VortexMixer(VelpScientifica®Porto Alegre – RS, Brasil), as amostras foram sonicadas por 20 segundos e depois transferidas para “eppendorf®” (São Paulo – SP, Brasil) de 1,5 mL e foram centrifugados a 14.000 rpm por 20 minutos a 4°. Na sequência, foram feitas alíquotas do sobrenadante, as quais foram armazenadas em freezer –80° para análises posteriores.

A atividade da catalase foi mensurada por metodologia descrita por Fonseca e colaboradores (2014). Para catalase plasmática, utilizou-se 10 µL de plasma diluído na proporção 1:1 em tampão da amostra. Uma curva padrão foi preparada para calcular a concentração da enzima nas amostras e o produto reacional foi quantificado em leitor para microplaca (ThermoScientific®São Paulo – SP, Brasil) no comprimento de onda de 540 nm.

Para catalase hepática, 20 µL do homogenato hepático foi diluído na proporção 1:500 em tampão. A atividade da catalase plasmática e hepática foi normalizada pela concentração de proteínas hepáticas (BRADFORD, 1976).

4.7.6 Mensuração da atividade da Arginase hepática

Para a mensuração da atividade enzimática da arginase, utilizou-se 2µL de homogenato hepático diluído na proporção 1:1000 em PBS por método colorimético como descrito por Fonseca e colaboradores (2014). Normalizou-se os resultados obtidos pela concentração de proteínas hepáticas (BRADFORD, 1976).

4.7.7 Análise de Resultados

Os dados obtidos foram organizados em tabelas com o programa Excel® (Microsoft, Santa Barbara, CA, USA) e a análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPadPrism® 5.0 (San Diego, CA, USA), com teste de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, considerando o número de variáveis analisadas, e

pós-teste de *Bonferroni*. Foram considerados significativos os resultados com valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

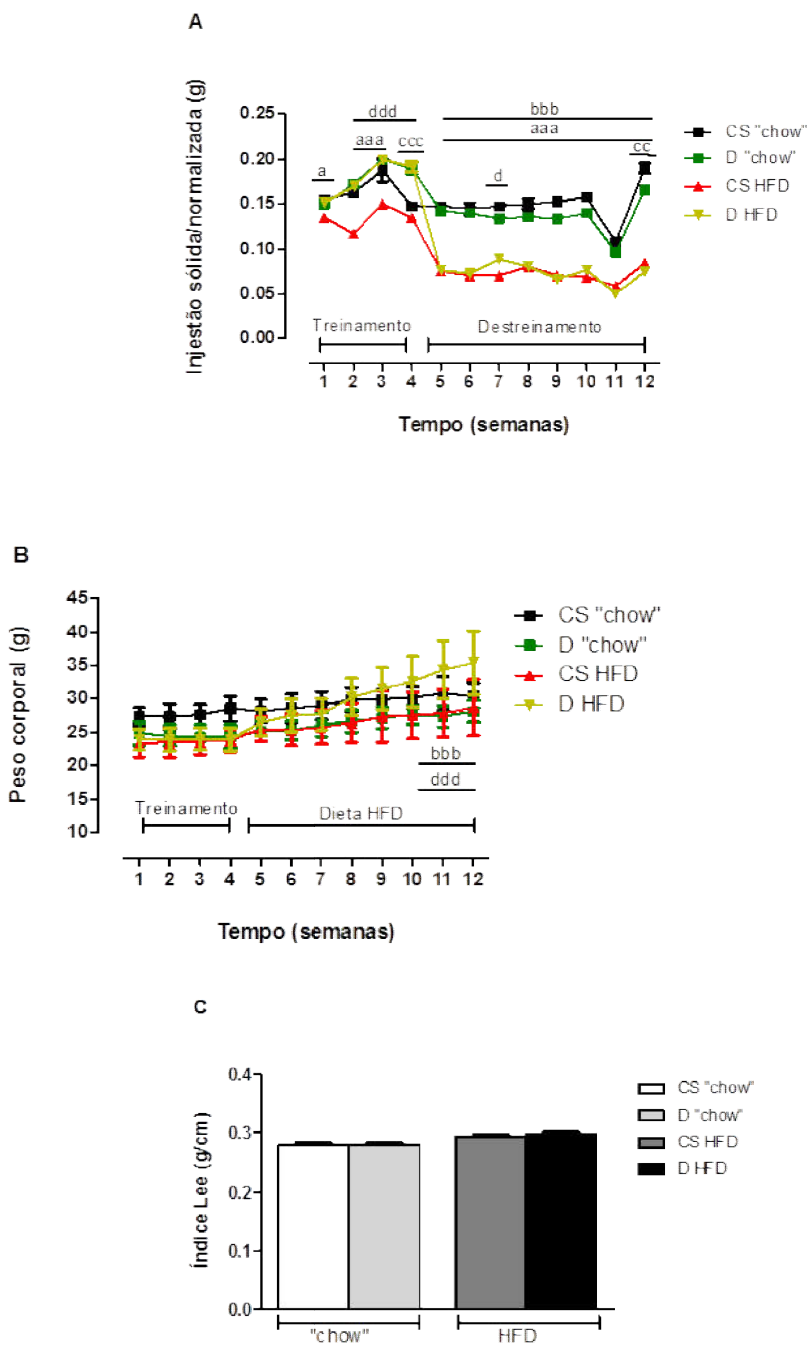
5.1 Ingestão alimentar, Peso corporal e Índice de Lee

Os dados referentes ao acompanhamento da ingestão alimentar durante todo o período experimental estão representados no **Gráfico 1A**. Neste, observa-se que o consumo de dieta padrão (Nuvilab[®] São Paulo - SP) pelo grupo CS HFD, durante o período de treinamento (1^a- 4^a semana), foi menor que todos os outros grupos. No período de destreino (5^a – 12^a semanas), quando os grupos CS HFD e D HFD passaram a receber dieta hipercalórica, houve redução na ingestão de alimentos por esses grupos (CS HFD e D HFD), e os grupos que continuaram a receber dieta “chow” mantiveram o padrão alimentar.

Os dados referentes ao peso corporal estão sumarizados no **Gráfico 1B**. A análise destes demonstra que não houve diferenças significativas entre os grupos treinados e sedentários durante o período de treinamento. Durante o destreino, observa-se que o peso corporal do grupo D HFD aumenta gradativamente, sendo significativamente maior que o peso corporal dos animais dos grupos D “chow” e CS HFD.

O Índice Lee, parâmetro também utilizado para a determinação da obesidade em murinos, está expresso no **Gráfico 1C**. A análise dos dados mostra que não houve diferença significativa entre os animais pertencentes aos grupos controle (CS “chow” e CS HFD), bem como aqueles pertencentes aos grupos destreinados, independente do alimento ingerido.

Gráfico 1 – Acompanhamento da ingestão sólida (g), peso corporal (g) e Índice Lee (g/cm).

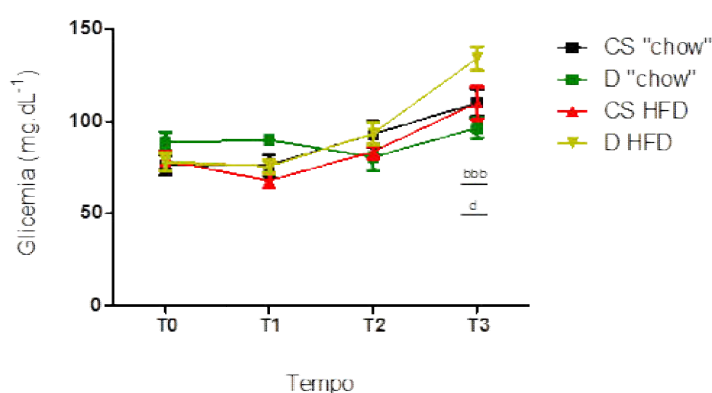


(A) Acompanhamento da ingestão sólida (g) normalizada pelo peso corporal (g); (B) Acompanhamento do peso corporal (g); (C) Índice Lee (g/cm) dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6); destreinados D"chow" (n=5) e DHFD (n=5). Durante o período de treinamento (intervalo 1^a – 4^a semanas) e durante o destreinamento (intervalo 5^a – 12^a semanas). Os valores representam a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via (Gráfico A e B) e duas vias (Gráfico C) com pós-teste de *Bonferroni*:^a $p < 0.05$; ^{aa} $p < 0.01$; ^{aaa} $p < 0.001$, CS "chow" vs CS HFD; ^{bbb} $p < 0.001$, D"chow" vs DHFD; ^{cc} $p < 0.01$; ^{ccc} $p < 0.001$, CS "chow" vs D "chow"; ^d $p < 0.05$; ^{ddd} $p < 0.001$, CS HFD vs DHFD.

5.2 Glicemia de jejum

Mensurou-se a glicemia em jejum nos tempos T0 (antes do protocolo de natação), T1 (após o período de treinamento e antes do protocolo de indução à SMet), T2 (quatro semanas do início do protocolo de indução à SMet) e T3 (término do protocolo experimental de indução à SMet) (**Gráfico 2**). Os dados apontam para um aumento significativo da glicemia de jejum no T3 do grupo D HFD comparado aos demais grupos.

Gráfico 2 – Acompanhamento da glicemia de jejum (mg.dL⁻¹).



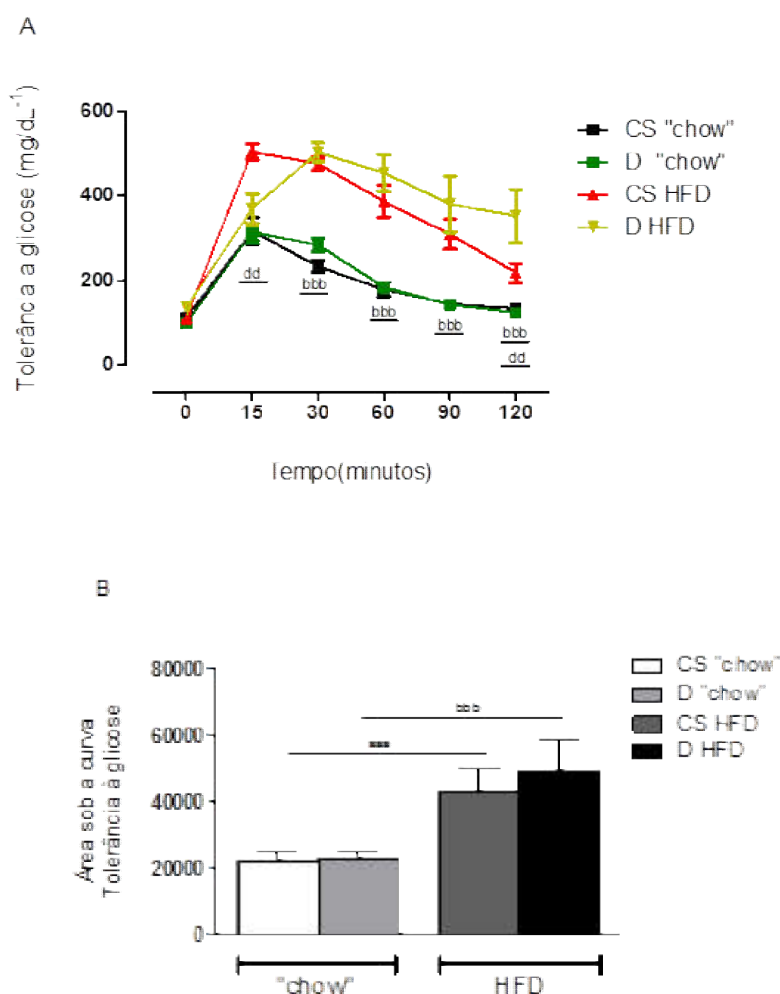
Acompanhamento da glicemia de jejum (mg.dL⁻¹) dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6); destreinados D "chow" (n=5) e D HFD (n=5). Glicose de jejum basal e início do protocolo de treinamento (T0); glicemia anterior ao início do protocolo de indução à SMet (T1); glicemia após quatro semanas de indução dietética da SMet (T2); e glicemia no término do protocolo experimental de indução à SMet (T3). Os valores representam a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) duas vias com pós-teste de *Bonferroni*: ^{bbb}p<0.001 D "chow" vs D HFD; ^dp<0.05 CS HFD vs D HFD.

5.3 Tolerância à glicose

A curva de tolerância à glicose (**Gráfico 3A**) apresenta um aumento significativo na glicemia em função do tempo nos grupos CS HFD e D HFD comparado aos respectivos grupos alimentados com dieta padrão (CS "chow" e D "chow"), indicando um perfil de intolerância à glicose induzida pelo consumo de dieta "high fat". A curva glicêmica do grupo D HFD foi significativamente maior comparado ao CS HFD. Somando-se a isso, o pico de concentração de glicose seguida da queda desta no grupo D HFD foi mais tardia, aos 30 minutos após a aplicação da glicose, enquanto que no grupo CS HFD ocorreu aos 15 minutos, fato

que indica uma demora na liberação de insulina. A área sob a curva mostra aumento significativo de intolerância a glicose no CSHFD vs CS "chow", bem como do D HFD vs D "chow" (**Gráfico 3B**). Esses resultados sugerem uma piora do quadro de intolerância à glicose associado ao consumo de dieta "high fat" em um período de destreino físico.

Gráfico 3 – Tolerância à glicose

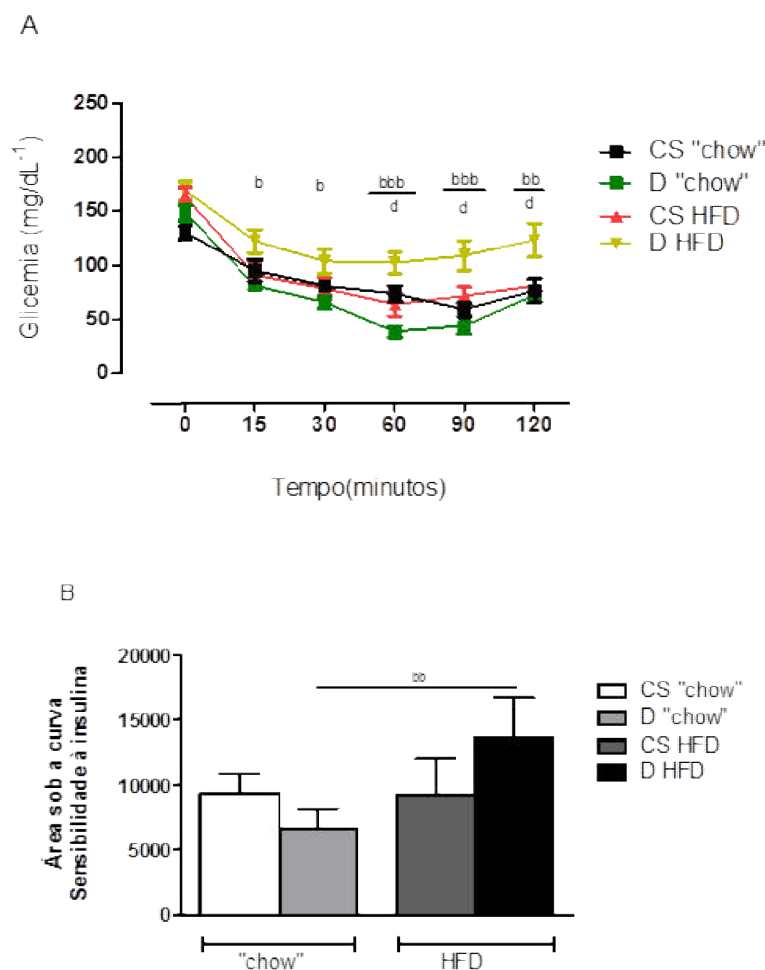


(A) Tolerância à glicose; (B) Área sob a curva do teste de tolerância à glicose dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6); destreinados D "chow" (n=5) e D HFD (n=5). Após 12 horas de jejum noturno, administrou-se, por via intraperitoneal, 2g de glicose/kg de peso corporal. Após este procedimento, a glicose sanguínea foi avaliada antes (t=0) e 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção de glicose em todos os grupos. Os valores representam a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) de uma e duas vias com pós-teste de *Bonferroni*: $p < 0.001^a$ CS HFD vs CS "chow", b D "chow" vs D HFD.

5.4 Sensibilidade à insulina

O **Gráfico 4** representa o perfil de sensibilidade à insulina. O decaimento da curva glicêmica em função do tempo após a injeção intraperitoneal de insulina foi significativamente menor no grupo D HFD comparado ao grupo CS HFD e D "chow", indicando uma menor sensibilidade à insulina induzida pelo consumo de dieta "high fat" associado ao período de destreino. A área sob a curva mostra aumento significativo da resistência a insulina no grupo D HFD vs D "chow" (**Gráfico 4B**).

Gráfico 4 – Sensibilidade à insulina



(A) Sensibilidade à insulina; (B) Área sob a curva do teste de sensibilidade à insulina dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6) e destreinados D "chow" (n=5) e D HFD (n=5). Após a aplicação intraperitoneal de 0,75 U de insulina/kg de peso corporal, os níveis glicêmicos foram avaliados antes (t=0), 15, 30 e 60 minutos após a injeção de insulina em todos os grupos. Os valores

representam a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) duas vias com pós-teste de Bonferroni: ^{bbb}p<0.001; ^{bb}p<0.01; ^bp<0.05 D “chow” vs D HFD; ^dCS HFD vs DHFD.

5.5 Peso relativo tecidual

Os valores de peso tecidual estão expressos na **Tabela 4**. O peso relativo dos tecidos cardíaco, ventrículo esquerdo, gastrocnêmio, pulmão, sóleo, cérebro e baço não foram diferentes entre os quatro grupos avaliados.

Observa-se uma diminuição significativa do tecido hepático induzido pelo consumo de dieta HF na situação sedentária (CS HFD vs CS “chow”). Por outro lado, observa-se que não houve diminuição do tecido hepático após destreino associado ao consumo de dieta HFD (D HFD vs CS HFD), mostrando a maior suscetibilidade ao aumento de massa hepática durante o destreino físico, possivelmente devido a esteatose hepática, decorrente desta condição dietética.

Não foram observadas diferenças significativas no peso relativo tecidual epididimal entre os grupos alimentados com dieta chow (CS “chow” e D “chow”). Entretanto, observou-se um aumento significativo do acúmulo de tecido epididimal no grupo CS HFD comparado ao CS “chow” e no grupo DHFD tanto comparado ao grupo CS HFD, quanto ao grupo D “chow”, mostrando efeito da dieta, que é intensificado quando associado a destreino.

O tecido adiposo perirenal e mesentérico aumentaram significativamente no grupo DHFD comparado ao grupo D “chow” e CS HFD. Interessantemente, o peso relativo do tecido adiposo marrom (TAM) aumentou significativamente no grupo DHFD comparado ao grupo D “chow” e CS HFD.

Observa-se diminuição significativa no peso relativo intestinal no grupo DHFD comparado ao grupo D “chow”, D “chow” comparado ao CS “chow” e entre CS HFD comparado ao grupo CS “chow”, indicando que tanto o destreino, quanto o consumo de dieta HFD, bem como ambos associados induzem diminuição de massa intestinal. Entretanto, não há diferença entre o peso relativo intestinal entre os grupos DHFD e CS HFD. O rim apresentou-se significativamente menor no grupo CS HFD comparado ao CS “chow”, indicando apenas o fator dieta HF como indutor desta diminuição tecidual.

Tabela 4- Peso relativo tecidual normalizado pelo comprimento tibial (g/mm).

| Tecido | CS "chow" | T "chow" | CS HFD | T HFD |
|---------------------|------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
| Coração | 0.97±0.03 | 0.88±0.03 | 0.82±0.02 | 0.94±0.04 |
| Ventrículo Esquerdo | 0.63±0.01 | 0.58±0.01 | 0.54±0.00 | 0.61±0.04 |
| Fígado | 7.65±0.25 | 7.31±0.27 | 5.48±0.09 ^a | 6.62±0.47 ^d |
| Epididimal | 1.10±0.17 | 0.98 ±0.10 | 3.01±0.46 ^a | 5.86±0.62 ^{b,d} |
| Perirenal | 0.31±0.10 | 0.20±0.02 | 1.36±0.26 | 3.04±0.45 ^{b,d} |
| Mesentérico | 2.86±0.08 | 2.93±0.21 | 3.93±0.45 | 6.16 ±0.73 ^{b,d} |
| TAM | 0.51±0.05 | 0.46± 0.01 | 0.52±0.04 | 0.79±0.09 ^{b,d} |
| Gastrocnêmio | 0.98 ± 0.04 | 0.99 ± 0.03 | 0.95±0.02 | 0.98 ± 0.03 |
| Sóleo | 0.06±0.00 | 0.06±0.00 | 0.05±0.00 | 0.06±0.00 |
| Pulmão | 1.02±0.03 | 0.92±0.03 | 1.02±0.06 | 0.97±0.03 |
| Cérebro | 2.89±0.04 | 2.98±0.06 | 2.92±0.03 | 2.99±0.03 |
| Intestino | 7.53±0.14 | 4.86±0.42 ^c | 4.15±0.19 ^a | 3.42±0.28 ^b |
| Baço | 0.65±0.07 | 0.48±0.03 | 0.50±0.02 | 0.69±0.09 |
| Rim | 1.10±0.02 | 1.01±0.03 | 0.92±0.02 ^a | 1.05±0.04 |

Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.05$):

^a CS HFD vs CS "chow";

^bD HFD vsD"chow"

^cD "chow" vs CS "chow";

^dDHFDvs CS HFD.

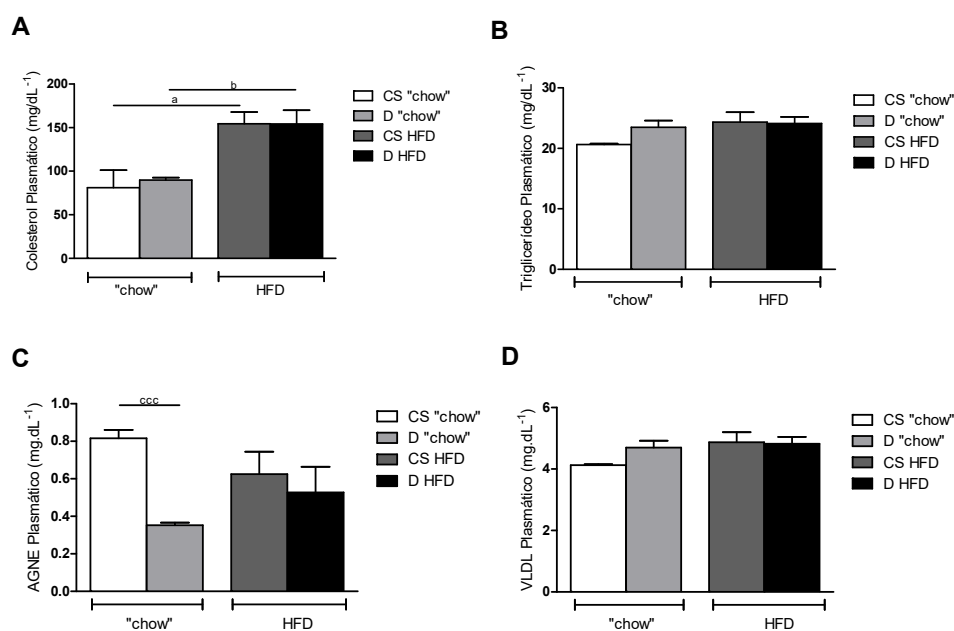
5.6 Avaliações sistêmicas e hepáticas

5.6.1 Perfil lipídico plasmático

Os níveis de colesterol, triglicerídeos, AGNE, e VLDL no plasma estão expressos no **Gráfico 5(A, B, C e D)**, respectivamente). Neste, observa-se um aumento significativo dos níveis de colesterol total entre os grupos alimentados com dieta "high fat" comparados aos grupos alimentados com dieta padrão "chow", não sendo observadas diferenças significativas em função do treinamento (**Gráfico 5A**). Ademais, os dados mostram que não houve diferenças significativas nos níveis

de triglicérides entre todos os grupos (**Gráfico 5B**). Os níveis de AGNE foram significativamente reduzidos no grupo treinado D “chow” comparado ao sedentário CS “chow”, mas não entre os alimentados com dieta “high fat” (**Gráfico 5C**). Os níveis de VLDL não diferiram significativamente entre todos os grupos (**Gráfico 5D**).

Gráfico 5 – Perfil lipídico plasmático



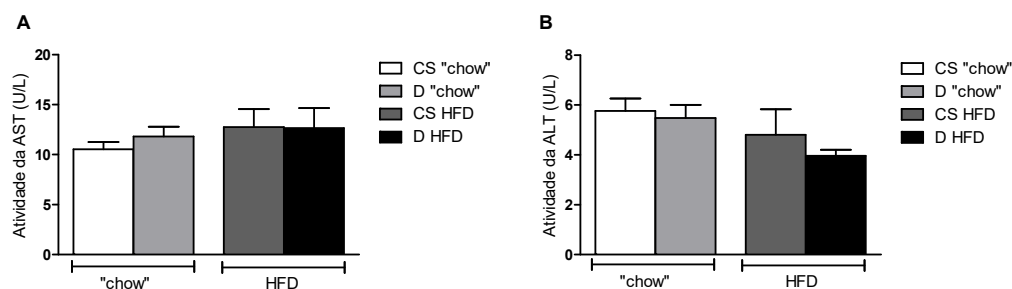
Perfil lipídico plasmático dos grupos controle CS “chow” (n=4) e CS HFD (n=6) e destreinados D “chow” (n=5) e D HFD (n=5). (A) colesterol; (B) triglicérides; (C) ácidos graxos não esterificados (AGNE) e (D) VLDL. Cada barra do gráfico representa a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via com pós-teste de *Bonferroni*: ^ap < 0.05, CS “chow” vs CS HFD; ^bD “chow” vs D HFD; ^{ccc}p < 0.001, CS “chow” vs D “chow”.

5.6.2 Avaliação da função e dano hepático

A função e lesão hepática são avaliadas pelas aminotransferases. Nesta direção, mensurou-se a atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT) no plasma, esta quando encontrada em níveis aumentados no sangue indica lesão nos hepatócitos e conseqüentemente, disfunção hepática. Concomitantemente, a enzima aspartatoaminotransferase (AST) é mensurada para avaliação do agravo hepático. Estas estão representadas no **Gráfico 6 (A e B, respectivamente)**, assim como a razão AST/ALT (**C**).

Os resultados obtidos da análise das aminotransferases, bem como da razão entre as duas, não apresentam diferenças significativas, o que indica que não houve dano hepático entre os grupos.

Gráfico 6 – Avaliação de dano hepático



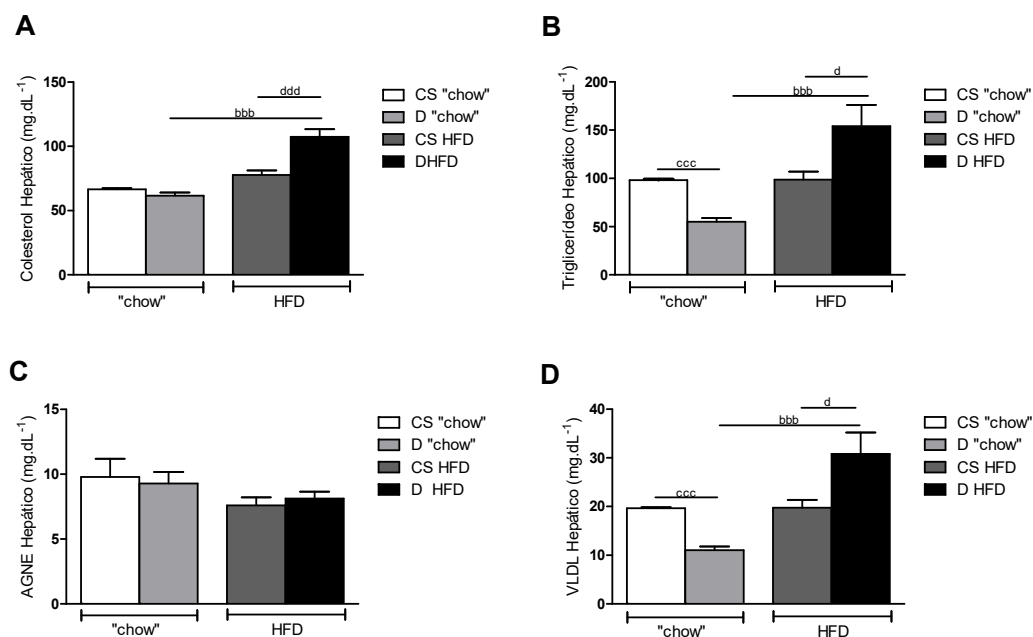
Avaliação da função e dano hepático dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6) e destreinados D "chow" (n=5) e D HFD (n=5). (A) Aspartatoaminotransferase – AST; (B) Alanina Aminotransferase - ALT; (C) Razão AST/ALT. Cada barra do gráfico representa a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via com pós-teste de *Bonferroni*.

5.6.3 Perfil lipídico hepático

Os níveis de colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e VLDL hepáticos estão expressos no **Gráfico 7(A, B, C e D)** respectivamente. Os dados mostram aumento significativo nos níveis de colesterol hepático entre o grupo alimentado com dieta "high fat" destreinado (D HFD) comparado ao grupo CSHFD e D "chow" (**Gráfico 7A**).

Os níveis de triglicerídeos hepáticos (**Gráfico 7B**), bem como de VLDL (**Gráfico 7D**) diminuíram significativamente após o treinamento no grupo que ingeriu dieta "chow" (CS "chow" vs D "chow"). Entretanto, no grupo alimentado com dieta "high fat", o treinamento induziu um aumento significativo dos triglicerídeos e VLDL hepáticos, (D HFD vs CSHFD). Não houve diferenças significativas nos níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE) entre os grupos (**Gráfico 7C**).

Gráfico 7 – Perfil lipídico hepático



Perfil lipídico hepático dos grupos controle CS "chow" (n=4) e CS HFD (n=6); destreinados D "chow" (n=5) e D HFD (n=5). (A) colesterol; (B) triglicerídeos; (C) ácidos graxos não esterificados (AGNE) e (D) VLDL. Cada barra do gráfico representa a média \pm EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via com pós-teste de *Bonferroni*: * $p < 0.05$, *** $p < 0.0001$.

5.6.4 Análise histológica hepática

Os resultados visualizados nos cortes histológicos apresentados na **Figura 8 (A, B, C e D)** são representativos dos grupos experimentais.

Na **Figura 8A** observa-se tecido hepático com estrutura normal, com cordões de hepatócitos, espaço sinusóide e a veia centrolobular representativa do grupo CS "chow". Sem alterações no grupo submetido ao destreinamento D "chow" (**Figura 8B**).

Na **Figura 8C**, observa-se a deposição de micro vacúolos de gordura no grupo CS HFD, evento esperado em decorrência do consumo de dieta hipercalórica/hiperlipídica. Por outro lado, a deposição de gordura no grupo D HFD (**Figura 8D**) apresentou micro e macro vacúolos de gordura, indicativo de infiltração gordurosa mais acentuada que no grupo CS HFD.

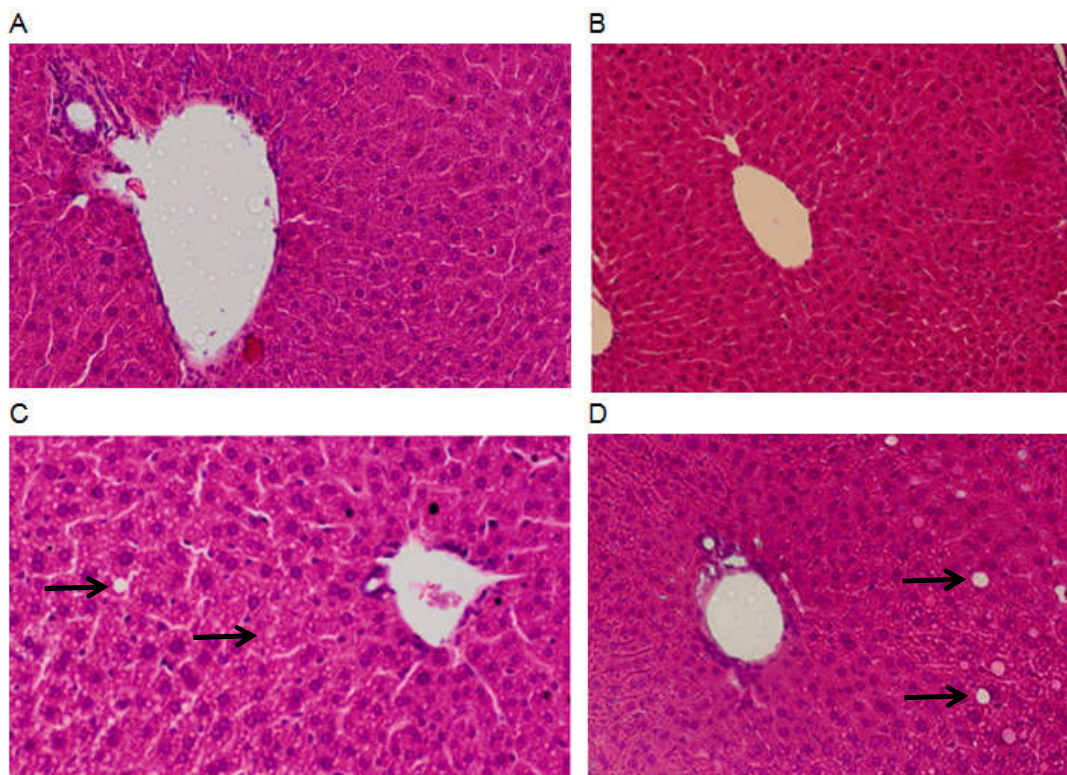
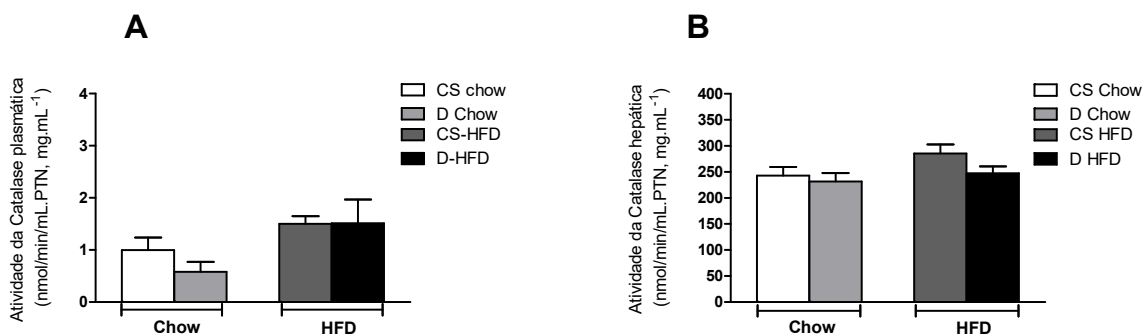


Figura 8. Microfotografias de cortes histológicos representativos dos grupos experimentais, controle CS “chow” (n=4) e CS HFD (n=6); destreinados D“chow” (n=5) e DHFD (n=5). Histologia hepática normal do grupo controle CS “chow” (A), do grupo D“chow” (B), com infiltração gordurosa de micro vacúolos no grupo controle CS HFD (C) e com micro e macro vacúolos de gordura, indicativo de infiltração gordurosa mais acentuada no grupo DHFD (D). As setas pretas indicam os micro e macrovacúolos de gordura. Hematoxilina & Eosina. Aumento de 40x.

5.6.5 Mensuração da atividade da catalase plasmática e hepática

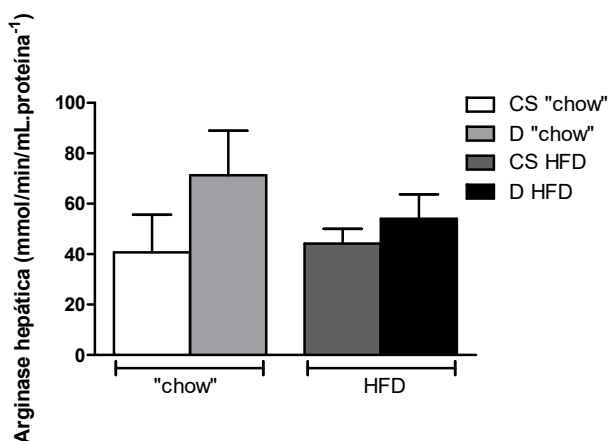
A atividade da catalase, expressa em unidade enzimática, não diferiu significativamente entre os grupos, tanto no plasma quanto no fígado (**Gráfico 8A-B**), respectivamente.

Gráfico 8 – Mensuração da atividade da catalase

Mensuração da atividade da catalase dos grupos controle CS “chow” (n=4) e CS HFD (n=6) e destreinados D “chow” (n=5) e D HFD (n=5). (A) plasmática e (B) hepática. Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via com pós-teste de *Bonferroni*.

5.6.6 Mensuração da atividade da arginase

A atividade da arginase hepática não apresentou diferença significativa entre os grupos (**Gráfico 9**).

Gráfico 9 – Mensuração da atividade da arginase

Mensuração da atividade da arginase hepática dos grupos controle CS “chow” (4) e CS HFD (n=6) e destreinados D “chow” (n=5) e D HFD (n=5). Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. Análise de variância (ANOVA) uma via com pós-teste de *Bonferroni*.

6.DISSCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o período de destreino físico associado à ingestão de alimentos hipercalóricos é um fator agravante ao desenvolvimento da obesidade e para mudanças no perfil glicêmico, perfil lipídico plasmático e hepático, as quais, em longo prazo, favorecem o desenvolvimento da DHGNA e, em maior grau, a SMet.

A DHGNA é considerada uma manifestação hepática da SMet, ambos compartilham a resistência à insulina como denominador comum (SINGH et al., 2015). No entanto, há evidências que a gordura hepática seja um critério superior no diagnóstico da resistência à insulina, ou seja, a DHGNA antecede o diagnóstico da SMet (KARAJAMAKI et al., 2016; SINGH et al., 2015). Neste sentido, avaliou-se principalmente os aspectos hepáticos do destreino, com e sem a oferta de dieta HFD, levando em consideração estudos anteriores realizados por nosso grupo, onde a presença de esteatohepatite foi observado no modelo animal para a SMet, após intervenção dietética hipercalórica por 7, 14 e 26 semanas (NUNES-SOUZA, 2012).

No presente estudo, o acompanhamento da ingestão alimentar fez-se necessário devido a sua relação com o balanço energético e as modificações no peso corporal (Rothwell; Stock, 1981). Devido à demanda energética durante a realização do exercício físico, esperava-se um aumento na ingestão alimentar dos grupos D “chow” e D HFD. No entanto, os resultados encontrados referentes ao acompanhamento da ingestão alimentar mostram que não houve diferenças significativas na ingestão de dieta padrão “chow” durante o período de treinamento entre os grupos CS “chow”, D “chow” e D HFD. Em contraste, a ingestão do grupo CS HFD foi menor que todos os grupos durante esse período.

Com relação ao período de destreino, MAZZUCATTO e colaboradores (2014) observaram redução na ingestão alimentar de animais destreinados alimentados com dieta padrão. Nossos dados não corroboram com estes achados, visto que não houve diferença significativa na ingestão alimentar dos grupos alimentados com dieta “chow” (CS “chow” e D “chow”) durante o período de destreino (Gráfico 1 A). A redução na ingestão alimentar ocorreu nos grupos CS HFD e D HFD, que passaram a consumir dieta hipercalórica, indicando que houve aumento no nível de saciedade induzido pela elevada ingestão de lipídios

(WISSE, 2004). Os resultados encontrados referentes ao acompanhamento do peso corporal não apresentaram diferenças significativas entre os grupos durante o período de treinamento, 4 semanas, período em que todos os grupos foram alimentados com dieta padrão ("chow") (Gráfico 1B), em contraste com estudos que verificaram a diminuição do peso corporal mediante treinamento físico (MAZZUCATTO et al., 2014; MOTTA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2012). No entanto, em estudo do nosso grupo não se observou diferenças significativas no peso corporal entre grupos controle e treinado durante 4 semanas de exercício de natação, a diminuição do peso corporal só foi observada com o protocolo de 8 semanas de exercício de natação (MENEZES-SILVA, 2016; Dados não publicados). Esses dados corroboram com os achados de ingestão alimentar, visto que não houve alterações no consumo alimentar, nem no peso corporal dos animais durante as 4 semanas de treinamento.

Durante o período de destreinamento, o peso corporal dos grupos CS "chow" e D "chow" não apresentou alterações significativas. Entretanto, estas diferenças foram observadas nos grupos HFD, sendo o peso corporal dos animais do grupo DHFD maior que do grupo CS HFD, demonstrando a maior suscetibilidade ao aumento de massa corpórea durante o destreinamento físico nesta condição dietética. Esses resultados corroboram com os achados de Bae et al. (2017) e Motta et al. (2012) que demonstraram que animais destreinados apresentam maior peso corporal mesmo comparados com os animais sedentários alimentados com HFD.

Com o destreinamento, há uma maior dependência de carboidratos como substrato de energia e diminuição do metabolismo lipídico (BAE et al., 2017; MUJICA; PADILHA, 2000) resultando em um rápido acréscimo da massa adiposa e ganho de peso. Somando-se, à alimentação rica em gordura compromete a mobilização, captação e oxidação de lipídios pela desregulação da lipase lipoprotéica (LPL) e da lipase hormônio sensível (LHS) (FARIAS et al., 2013), desregulação que também ocorre com a diminuição da LPL no músculo esquelético ao passo que aumenta nos adipócitos, inibindo a LHS, bem como diminuindo o metabolismo de gordura. Dessa forma, tem-se um aumento no armazenamento deste macronutriente nos adipócitos (BROOKS et al., 2013) e induzido ao processo inflamatório sistêmico presente em indivíduos obesos (NOGUEIRA et al., 2017).

Estudos contrários indicam que a oferta de uma dieta rica em gordura e palatável frequentemente resulta em hiperfagia e obesidade (Rothwell; Stock, 1981).

Nesse sentido, também avaliamos o índice Lee, que é uma medida que associada a dados como peso corporal é utilizado para a determinação da obesidade em murinos. Nossos resultados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (**Gráfico 1 C**).

Em conjunto, os resultados do presente estudo com relação à ingestão alimentar e peso corporal indicam que o tempo de prática de exercício físico pode influenciar desde a solicitação energética para realização do exercício a alterações no peso corporal. Por outro lado, mesmo parece ocorrer com o índice Lee em relação ao período de destreinamento associado à ingestão de dieta HFD. O aumento de peso e adiposidade ocasionado por dieta HFD promove o aumento do nível glicêmico (NOGUEIRA et al., 2017). Em trabalho realizado pelo nosso grupo, utilizando-se o mesmo padrão dietético, NUNES-SOUZA et al. (2016) observaram fenótipo semelhante em camundongos C57Bl/6. Em consonância com estes resultados prévios, nossos dados apontam que, ao término de oito semanas de dieta hipercalórica e destreinamento, ocorreu um aumento da glicemia de jejum nos grupos CSHFD e D HFD, conseqüentemente devido à dieta, sendo esse aumento ainda maior no grupo destreinado (DHFD) (**Gráfico 2**). Seguindo esse padrão, a curva de tolerância à glicose apresenta um aumento significativo na glicemia em função do tempo nos grupos CSHFD e D HFD (**Gráfico 3 A**). A área sob a curva mostra aumento significativo no CSHFD vs CS "chow", bem como do D HFD vs D "chow" (**Gráfico 3B**). Além disso, o pico de concentração glicêmica após 30 minutos, seguida de decaimento nos tempos 60, 90 e 120 minutos no grupo D HFD foi mais tardio, indicando uma piora do quadro de intolerância à glicose associado ao consumo de dieta "high fat" em um período de destreinamento físico. Por outro lado, no grupo DHFD, o menor decaimento da concentração glicêmica em função do tempo após a aplicação intraperitoneal de 0,75 U de insulina.kg⁻¹ de peso corporal, indica sensibilidade à insulina reduzida (**Gráfico 4 A**). A área sob a curva mostra aumento significativo no grupo D HFD vs D "chow" (**Gráfico 4B**).

Estudos anteriores sugerem que a maior capacidade em armazenar energia, em conjunto com a alta eficiência do sistema imune inato resultante do treinamento, numa situação de destreinamento pode conduzir a um rápido ganho de peso e uma precoce e acentuada resistência à insulina, que pode ser agravada se no período de destreinamento houver fartura de alimento hipercalórico (PAULI, 2007). DIRKS e colaboradores (2016) verificaram que períodos de apenas 10 dias de

destreinamento pode reduzir a sensibilidade à insulina em 29,6%, independente do consumo de dieta hipercalórica.

Em estudo clínico, Singh e colaboradores (2015) verificaram maior resistência à insulina em pacientes com DHGNA do que em pacientes com SMet, e o grupo resistente à insulina (DHGNA) também apresentou maior IMC, circunferência da cintura e do quadril, glicemia em jejum e triglicérides séricos. Somando-se, a adiposidade afeta o metabolismo hepático com a liberação de lipídios diretamente na circulação portal (BROOKS et. al., 2013). Sob este aspecto, os dados de peso relativo dos tecidos adiposos epididimal, perirenal e mesentérico do grupo DHFD atentam para uma possível relação entre o destreinamento com o grau de obesidade e deposição de gordura, em função do consumo de dieta hipercalórica. Além disso, sugere a participação desta adiposidade visceral como infiltrado gorduroso hepático.

A dieta hipercalórica, utilizada no presente estudo, induziu perda tecidual em alguns órgãos, avaliada pelo peso relativo (**Tabela 4**). De acordo com os dados obtidos, nota-se perda nos tecidos renal, hepático e intestinal dos animais alimentados com a dieta hipercalórica quando comparados aos animais alimentados com dieta "chow". Em estudo anterior do nosso grupo, Nunes-Souza e Colaboradores (2016) constataram diminuição do peso relativo renal, hepático e intestinal em animais alimentados com dieta HFD. Neste mesmo estudo, os autores levantaram a hipótese dessa perda tecidual estar relacionada à peroxidação lipídica, uma vez que seus produtos são citotóxicos e altamente reativos contribuindo assim para a injúria tecidual. Entretanto, esta não foi verificada para comprovação em nenhum dos estudos.

MAZZUCATTO e colaboradores (2014) não observaram diferenças significativas entre os grupos no peso relativo do tecido cardíaco, ventrículo esquerdo, gastrocnêmio, pulmão, sóleo, cérebro e baço, resultados que corroboram com os achados do presente estudo, e podem indicar que o período de destreinamento pode ter revertido alterações proporcionadas pelo exercício físico, ou que o consumo de dieta "high fat" não influenciou as mudanças de massa desses órgãos no presente estudo.

NEUFER (1989) verificou que ratos com 4 a 10 semanas de treinamento de natação produziram um aumento de 19 a 30% no peso ventricular, mas que com o destreinamento, os pesos ventriculares igualaram-se a valores ventriculares de controle. Provavelmente porque as alterações estruturais cardíacas dependem não

apenas do desenvolvimento normal, mas também das exigências funcionais do órgão (MORVAN et. al., 2009).

Durante a prática de exercício físico, há modificações nas funções cardiovasculares como o fluxo sanguíneo, o esforço de cisalhamento luminal, a pressão arterial e o estresse tangencial da parede, que podem conduzir a mudanças na função arterial, diâmetro e espessura da parede cardíaca, o que vai contribuir para a diminuição do risco cardiovascular (GREEN et. al., 2017). Ao passo que quando o estímulo é cessado, as mudanças adquiridas são revertidas, seguindo o princípio do destreinamento (MONTEIRO; NEIRA, 2011).

Recentemente também relacionado à diminuição de DCVs, o tecido adiposo marrom (TAM) tem propriedades no tônus vascular e no metabolismo lipídico e glicêmico, o que torna sua estimulação relevante como opção terapêutica para obesidade (THOONEN et. al., 2016; TAM et. al., 2012).

No nosso estudo, o peso relativo do TAM aumentou significativamente no grupo DHFD comparado tanto ao grupo D“chow” quanto ao grupo CS HFD, evidenciando as propriedades termogênicas do TAM, que segundo Thoonen e colaboradores (2016) advém da oxidação de glicose e ácidos graxos para produzir calor para a termorregulação, aumentando assim o gasto energético.

Rothwell e Stock observaram que ratos alimentados com dieta de cafeteria apesar de consumir 80% mais energia tiveram um aumento de peso do tecido adiposo marrom de 27% , maior do que em ratos alimentados com dieta padrão para roedores. Este estudo forneceu a primeira evidência que sugeriu potencial do TAM na manutenção do peso corporal e na composição corporal, pois poderia dissipar o excesso de calorias durante o balanço energético positivo, além do seu papel na regulação da temperatura corporal em ambientes frios (TAM et. al., 2012).

No que se refere ao perfil lipídico plasmático, observou-se um aumento significativo dos níveis de colesterol total entre os grupos alimentados com dieta “high fat” comparados aos grupos alimentados com dieta padrão “chow” (**Gráfico 5A**). A ausência de alterações significativas para triglicerídeos e VLDL pode estar relacionada com o tempo de exposição à dieta “high-fat”, visto que em estudos anteriores do nosso grupo, mesmo um período de exposição à dieta “high-fat” de 14 semanas, não foi suficiente para apresentar alterações significativas nesses parâmetros (NUNES-SOUZA et al, 2016)

Na execução do exercício físico aeróbico, há uma maior solicitação dos AGNE como fonte de energia (MENEZES-SILVA, 2016). Interessantemente os níveis de AGNE plasmático permaneceram significativamente reduzidos no grupo treinado D“chow” comparado ao sedentário CS “chow”, mas não entre os alimentados com dieta “high fat” (**Gráfico 5C**). Como dito anteriormente, em condições de destreinamento há uma maior dependência de carboidratos como substrato de energia e diminuição do metabolismo lipídico (BAE et. al., 2017; MUJIK; PADILHA, 2000). Assim, nossos resultados indicam comprometimento do metabolismo lipídico relacionado com o consumo de dieta hipercaloria (FARIAS et. al., 2013).

Dada a importância do fígado para absorção dos lipídios da ingestão alimentar, para o metabolismo da glicose por meio da gliconeogênese e suas contribuições para o metabolismo (RUI, 2014), e considerando-se que o acúmulo de gordura no fígado pode progredir para a DHGNA, considerada uma manifestação hepática da SMet (SINGH et al., 2015), o presente estudo avaliou os níveis de ALT, um indicador de lesão nos hepatócitos, e da AST as quais, por sua vez, indicam a gravidade dessa lesão (KWO et. al., 2017) (**Gráfico 6 A e B**, respectivamente). Nesta direção, os resultados obtidos no presente estudo não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, assim como na razão AST/ALT (**Gráfico 6 C**). Postula-se que o tempo de exposição à dieta HFD está relacionada a alterações desses biomarcadores, tendo em vista que NUNES-SOUZA et al. (2016) encontrou alterações nas aminotransferases em animais alimentados com HFD com um período de exposição à essa dieta de 14 semanas, superior a do presente estudo. No entanto, um nível de ALT normal não pode excluir uma doença hepática (KWO et. al., 2017).

Embora a alteração das aminotransferases possa indicar lesão hepática, essa não pode ser considerada a única forma de verificação de dano hepático já que outros órgãos podem secretá-las após lesão, a exemplo o coração, músculo esquelético, rim e cérebro (KWO et. al., 2017). Além disso, a quantificação da fosfatase alcalina, bilirrubina e albumina também faz-se necessária para diagnosticar a doença hepática, bem como sua avaliação histológica que uma vez apresentada infiltração gordurosa, prediz diagnóstico de esteatose hepática não alcoólica (RUI, 2014).

Seguindo-se a avaliação hepática, o colesterol hepático (**Gráfico 7 A**), apresentou-se aumentado nos grupos CS HFD e D HFD, sendo ainda maior no

grupo D HFD. Houve acúmulo de triglicerídeos (**Gráfico 7 B**) e VLDL hepáticos (**Gráfico 7 D**), sendo significativamente maior nos grupos CS HFD e D HFD em comparação aos grupos CS “chow” e D “chow”. Tais resultados associados ao peso relativo do tecido hepático, que apresentou perda tecidual no grupo CS HFD devido à ingestão lipídica, não observada no grupo D HFD, indicam maior deposição lipídica hepática durante o treinamento físico associado ao consumo de dieta “high fat”. Por outro lado, na condição de dieta “chow”, observou-se diminuição significativa de triglicerídeos e VLDL mesmo após o treinamento (D “chow” vs CS “chow”), demonstrando que o acúmulo lipídico hepático é decorrente da alimentação HFD e acentuado quando da associação com o treinamento. Os AGNE hepáticos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (**Gráfico 7 C**).

Concomitantemente, a representação histológica hepática mostrou que o grupo CS “chow” (**Figura 8 A**) apresentou estrutura normal, sem alterações no grupo submetido ao treinamento D “chow” (**Figura 8 B**). Corroborando com os achados do perfil lipídico hepático onde é possível verificar o aumento nos níveis de triglicerídeos, os grupos alimentados com dieta “high fat” (CS HFD e D HFD) apresentam deposição lipídica, sendo mais acentuada no grupo D HFD (**Figura 8 D**) com macro e micro vacúolos de gordura, indicando que a infiltração gordurosa pode ocorrer com uma dieta rica em gordura e acentuada com o treinamento.

A gordura ingerida é armazenada principalmente sob a forma de triglicerídeos nos adipócitos (BAE et al., 2017), mas os hepatócitos também convertem produtos do metabolismo dos carboidratos em lipídios, que podem ser armazenados no tecido adiposo, como também sintetizam grandes quantidades de lipoproteínas, colesterol e fosfolipídios (RUI, 2014).

Indivíduos obesos e alguns sujeitos de peso normal com distúrbio do metabolismo das lipoproteínas e aumento nos níveis de triglicerídeos apresentam resistência à insulina, isso porque o aumento de triglicerídeos interfere no metabolismo da glicose muscular (Guerrero-Romero et. al., 2010).

Em associação com a deposição lipídica, os dados referentes ao perfil glicêmico indicam resistência à insulina devido à ingestão alimentar de dieta HFD nos grupos CS HFD e D HFD, sendo acentuada pelo treinamento. A ingestão de dieta “high fat” é também um fator importante no aumento da geração de ERONs. Nessa condição, as defesas antioxidantes do corpo podem ser incapazes de

combatê-las acarretando num quadro de estresse oxidativo (NOVELLI et al., 2007). Somando-se, o estresse oxidativo crônico participa na progressão da DHGNA (VIDELA, 2004),

Apesar do exercício físico também causar estresse oxidativo pelo aumento do consumo de oxigênio com o movimento contrátil dos músculos, principalmente quando extenuante, o mesmo pode ser considerado um antioxidante (GREEN et al., 2017). Um pequeno estímulo, como baixas concentrações de EROSN é capaz de induzir a expressão de enzimas antioxidantes e outros mecanismos de defesa (GOMEZ-CABRERA et al., 2008).

Neste sentido, avaliamos a atividade da catalase plasmática e hepática (**Gráfico 8A –B**), respectivamente. Essa não apresentou diferença significativa entre os grupos. Brooks et al. (2011) afirmam que a atividade da catalase pouco se altera com a prática de exercício físico. Por outro lado, Menezes-Silva (2016; Dados não publicados) em avaliação dos efeitos de dois protocolos de treinamento, 4 e 8 semanas, encontrou diferença na atividade da catalase apenas no protocolo de treinamento de 8 semanas.

Ainda pouco observada nos estudos com dieta HFD e exercício físico, a atividade da arginase pode ocasionar ação antioxidante ou pró-oxidante por está envolvida na biodisponibilidade de $^{\bullet}\text{NO}$, isso porque a reação que produz o $^{\bullet}\text{NO}$ é mediada pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS), a partir do substrato L-arginina, substrato também utilizado pela arginase (RABELO et al., 2015), sendo a diminuição na biodisponibilidade deste gás fator importante na patogênese dos agravos cardiovasculares e metabólicos (MENEZES-SILVA, 2016; RABELO et al., 2015).

Embora à modulação da atividade da arginase também esteja relacionada à esteatose hepática e a DHGNA (LIU et al., 2016), no presente estudo, a atividade hepática desta enzima não apresentou diferença significativa em nenhum dos grupos estudados. Postula-se que este resultado também possa ser influenciado pelo tempo de exposição à dieta HFD.

Com bases nos achados supracitados, bem como nas condições experimentais do presente estudo, observou-se que a ingestão de uma dieta padronizada rica em lipídios e hipercalórica (58% de calorías provenientes de fonte lipídica; NUNES-SOUZA et al., 2016) favoreceu o desenvolvimento de distúrbios metabólicos, tais como aumento do peso corporal, intolerância à glicose, resistência à insulina, esteatose hepática e hipercolesterolemia em camundongos C57Bl/6. Tal

condição foi potencializada em animais destreinados, sugerindo que a descontinuidade do exercício físico associado à dieta hipercalórica é um fator de risco para o desenvolvimento de distúrbios do metabolismo glicêmico e lipídico que, em longo prazo, pode favorecer o desenvolvimento da SMet.

7. CONCLUSÃO

- O ganho de peso corporal, associado à maior deposição de gordura hepática e ao perfil de resistência a insulina observado nos animais do grupo D HFD, indica que o destreino associado ao consumo de dieta hipercalórica acentua os efeitos metabólicos lipídicos e glicêmicos, configurando a DHGNA;
- Em conjunto, os resultados indicam que camundongos C57Bl/6 são mais suscetíveis à SMet quando destreinados e alimentados com dieta “high fat”.

8. REFERÊNCIAS

ALBERTI, K.G.M.M. et. al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. Joint Scientific Statement. **Circulation**;120:1640-1645, 2009.

ANDRADE, A. et. al. Animais de laboratório criação e experimentação. Rio de Janeiro: **Editora FIOCRUZ**, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books.

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. 13, 2017.

BARBOSA, K.B.F. et. al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BERGAMO, F. C. Influência do gene da enzima conversora de angiotensina sobre as respostas metabólicas induzidas pelo treinamento físico aeróbico em camundongos diabéticos. 2010. 84f. **Dissertação de Mestrado em Educação Física** - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo.

BORTOLETTO, M. S. S. et. al. Síndrome metabólica em estudos com adultos brasileiros: uma revisão sistemática. Espaço para a Saúde - **Revista de Saúde Pública do Paraná**, v. 15, n. 4, p. 86, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA DE DOENÇAS E AGRAVOS NÃO; SAÚDE.**, T. E P. DA. Vigitel Brasil 2016. [s.l: s.n.].

BROOKS, George A. *et al.* Fisiologia do exercício: bioenergética humana e suas aplicações. Tradução de Reury Frank Bacurau, Francisco Navarro. São Paulo: **Phorte**, 2013.

BRUUSGAARD, J. C. et al. Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 34, p. 15111–15116, 2010.

CAMPOS, E. Z. et. al. Efeito do treinamento de natação sobre estresse metabólico de ratos diabéticos e não diabéticos. **Rev Bras Ativ Fis Saúde**, v. 204, p. 195, 2014.

CASPERSEN, C. J. et. Al. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public health reports** (Washington, D.C. : 1974), v. 100, n. 2, p. 126–31, 1985.

CHORILLI, M. et. al. Animais de laboratório : o camundongo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 28, n.1, p.11-23, 2007.

CIOLAC, E. G.; GUIMARAES, G. V. Physical exercise and metabolic syndrome. [Portuguese, English] Exercício físico e síndrome metabólica. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 319–330, 2004.

Diretrizes do ACMS para testes de esforço e sua prescrição / **American College of Sports Medicine**; tradução Dilza baleiro pereira de campos. – 9. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara, 2014.

CORNIER, M. A. et al. The Metabolic Syndrome. **Endocrine Reviews** 29(7):777–822, 2008.

DIRKS, M. L. et al. One week of bed rest leads to substantial muscle atrophy and induces whole-body insulin resistance in the absence of skeletal muscle lipid accumulation. **Diabetes**, v. 65, n. 10, p. 2862–2875, 2016.

EDUARDO, C. et al. I Diretriz Brasileira De Diagnóstico E Tratamento Da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, p. 1–28, 2005.

ELEUTÉRIO-SILVA, M. A. et al. Short-term cardiovascular physical programme ameliorates arterial stiffness and decreases oxidative stress in women with metabolic syndrome. **Journal of Rehabilitation Medicine**, v. 45, n. 6, p. 572–579, 2013.

EVANGELISTA, F.S; BRUM, P.C. Efeitos do destreinamento físico sobre a “performance” do atleta: uma revisão das alterações cardiovasculares em músculos esqueléticos. **Rev. paul. Educ. Fís.**, São Paulo, 13(2): 239-49, jul./dez. 1999.

EVANGELISTA, F.S. et al. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 36: 1751-1759, 2003.

FARIAS, J. M. et al. Effect of physical training on the adipose tissue of diet-induced obesity mice: interaction between reactive oxygen species and lipolysis. **Hormone and metabolic research**. v. 45, n. 3, p. 190–6, 2013.

FERNANDES, T. et al. Aerobic exercise training promotes physiological cardiac remodeling involving a set of microRNAs. **Am J Physiol Heart CircPhysiol**309: H543–H552, 2015.

FONSECA, Lucas José Sá da et al. Oxidative Status Imbalance in Patients with Metabolic Syndrome: Role of the Myeloperoxidase/Hydrogen Peroxide Axis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, vol. 2014.

FRAULOB, J. C. et al. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. **Journal of clinical biochemistry and nutrition**, v. 46, n. 3, p. 212–23, 2010.

FREITAS, E. D. et al. Síndrome Metabólica: uma revisão dos critérios de diagnóstico. **Rev. Min. Enferm.**, v. 12, n. 3, p. 403–411, 2008.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The journal of clinical investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752–1761, 2004.

GOMEZ-CABRERA, M. C. et. al. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 2, p. 126–131, 2008.

GUEDES, G. S. Estudo hepático de um modelo murinho dietético para síndrome metabólica: perfil morfológico, funcional e balanço redox. 2009. 135f. **Dissertação de Mestrado em Nutrição** – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

GRUNDY, S. M. et. al. Definition of Metabolic Syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. **Circulation**, 109:433-438, 2004.

HIGA, T. S. Potencial do treinamento físico aeróbico para a prevenção do diabetes tipo 2 induzido por dieta de cafeteria: papel do tecido adiposo branco. 2012. 100f. **Dissertação de Mestrado em Ciências** – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo.

HOTAMISLIGIL, G. S. et al. **Rapid Publication Obesity and Insulin Resistance**. v. 95, n. January, p. 2409–2415, 1995.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saúde 2013**: percepção de estado de saúde, estilo de vida e doenças crônicas. [s.l: s.n.].

KÄRÄJÄMÄKI, A. J. et. al. Non-alcoholic fatty liver disease with and without etabolic syndrome: Different long-term outcomes. **Metabolism clinical and experimental**, 66. 55 – 63, 2 0 1 7.

KREGEL, K. C. et. al. AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION. Chapter 3. Exercise Protocols Using Rats and Mice. **Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols**, n. February, p. 53–56, 2007.

KWO, P. Y. et. al. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. **Am J Gastroenterol**, 112:18–35, 2017.

KUSCHNIR, M. C. C. et al. ERICA: Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adolescents. **Revista de Saude Publica**, v. 50, n. supl 1, p. 1s–13s, 2016.

LAVIE, C. J. et al. Exercise and the Cardiovascular System. **Clinical Science and Cardiovascular Outcomes**. p. 207–220, 2015.

LIU, C. et. al. Targeting arginase-II protects mice from high-fat-diet-induced hepatic steatosis through suppression of macrophage inflammation. **Scientific Reports**, 6:20405, 2016.

LUO, L.; LIU, M. Adipose tissue in control of metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 231, n. 3, p. R77–R99, 2016.

- MALAFAIA, A. B. et. al. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **ABCD Arq Bras Cir Dig**. 2013;26(Suplemento 1):17-21.
- MAZZUCATTO, F. et. al. Reversal of metabolic adaptations induced by physical training after two weeks of physical detraining. **Int J ClinExpMed**, 7(8):2000-2008, 2014.
- MENEZES-SILVA, C. E. Efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em camundongos C57BL/6. 2016. 118f. **Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde** – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas.
- MIRANDA, R. A. T. Efeitos do treinamento físico sobre biomarcadores na síndrome metabólica. 2017. 89f. **Dissertação de Mestrado em Fisioterapia** - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Presidente Prudente.
- MONTEIRO, Arthur Guerrini; NEIRA, Marcos Garcia. Treinamento personalizado: uma abordagem didático-metodológica. 4 ed. rev. e ampl. São Paulo: **Phorte**, 2011.
- MORVAN, E. et. al. Structural adaptations of the heart to physical exercises in the metabolic syndrome. **Braz. j. morphol. sci**, v. 26, n. 2, p. 118–122, 2009.
- MOTTA, V. F.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Beneficial Effects of Exercise Training (Treadmill) on Body Mass and Skeletal Muscle Capillaries / Myocyte Ratio in C57BL / 6 Mice Fed High-Fat Diet. **Int. J. Morphol.** v. 30, n. 1, p. 205–210, 2012.
- MUJIK, I.; PADILLA, S. Cardiorespiratory and metabolic characteristics of detraining in humans. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, n. June 2000, p. 413–421, 2000.
- MUJIK, I.; PADILLA, S. Detraining: Loss of Training-Induced Physiological and Performance Adaptations. Part I. Short Term Insufficient Training Stimulus. **Sports Medicine**, v. 30, n. 2, p. 79–87, 2000.
- MUJIK, I.; PADILLA, S. Detraining: Loss of Training-Induced Physiological and Performance Adaptations. Part II. Long Term Insufficient Training Stimulus. **Sports Medicine**, v. 30, n 3, p.145-154, 2000.
- NEGRÃO, Carlos Eduardo et al. *Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata*. 3ª ed. Barueri, SP: **Manole**, 2010.
- NEUFER, D. The Effect of Detraining and Reduced Training on the Physiological Adaptations to Aerobic Exercise Training. **Sports Medicine**, v. 8, n. 5, p. 302–320, 1989.
- NERY, C. S. et. al. Medidas Murinométricas e Eficiência Alimentar em Ratos Provenientes de Ninhadas Reduzidas na Lactação e Submetidos ou Não ao Exercício de Natação. **Rev Bras Med Esporte**, Vol. 17, n 1, 2011.

NIEMAN, David C. Exercício e saúde: teste e prescrição de exercícios. Barueri, SP: **Manole**, 2011.

NOGUEIRA, P. A. S. et al. Physiological adaptations induced by swimming in mice fed a high fat diet. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 13, n. 3, p. 284–291, 2017.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111–119, 2007.

NUNES-SOUZA, V. Avaliação das alterações morfo-funcionais hepáticas e do balanço redox em um modelo murino para a síndrome metabólica induzida por uma dieta hipercalórica. 2012. 101f. **Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde** – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas.

NUNES-SOUZA, V. et al. Aging Increases Susceptibility to High Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome in C57BL / 6 Mice : Improvement in Glycemic and Lipid Profile after Antioxidant Therapy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.

PAULI, J. R. Efeitos do destreinamento e da dieta hiperlipídica nos mecanismos moleculares de indução de obesidade e resistência à insulina. 2007. 283f. **Tese de Doutorado em Clínica Médica** – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.

PERNOW, J.; JUNG, C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? **Cardiovascular Research, European Society of Cardiology**, 98, p. 334–343, 2013.

PRADA, F. J. A et al. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **R. bras. Ci e Mov.**, v. 12, p. 29–34, 2004.

PUHL, S.-L. et al. Exercise attenuates inflammation and limits scar thinning after myocardial infarction in mice. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 2, p. H345–H359, 2015.

RABELO, L. A. et al. Arginase as a Critical Prooxidant Mediator in the Binomial Endothelial Dysfunction-Atherosclerosis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2015.

REAVEN, G. M.; CHEN, Y. D. Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **The American journal of medicine**, v. 85, n. 5A, p. 106–112, 1988.

REXFORD, S. A; FLIER, J. S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **TEM Vol. 11, No. 8, 2000.**

ROTHWELL, N. J; STOCK, M. J. A role for brown adipose tissue in diet – induce thermogenesis. **Nature**. Vol.281, 6, 1979.

ROTHWELL, N. J; STOCK, M. J. Regulation of energy Balance. **Ann. Rev. Nutr.** 1981. 1:235-56.

RUI, L.; PHYSIOLOGY, I. **HHS Public Access.** v. 4, n. 1, p. 177–197, 2014.

SAAD, M. A. N. et al. Prevalence of Metabolic Syndrome in Elderly and Agreement among Four Diagnostic Criteria. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 263–269, 2014.

SCHULTZ, A. et al. Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 4, p. 273–282, 2012.

SERTIÉ, R. A. L. Repercussões do destreinamento físico sobre o metabolismo e a celularidade do tecido adiposo branco periepídídimo de ratos. 2010. 114f. **Tese de Doutorado em Ciências** – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

SINGH, S. P. et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Alone Is a Better Predictor of Metabolic Syndrome and Insulin Resistance than Existing ATP-III Criteria. **J Metabolic Syndr** 2015, 4:4, 2015.

SOUZA, A. H de. Metabolismo de glicose no tecido adiposo branco: efeitos do treinamento e destreinamento em adipócitos isolados. 2011. 84f. **Dissertação de Mestrado em Ciências** - Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo.

TAM, C. S. et. al. Brown Adipose Tissue. Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. **Circulation**, 125:2782-2791, 2012.

VIDIGAL, F. C. et al. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. **BMC Public Health**, v. 13, p. 1198, 2013.

WATERSTON, R. H. et. al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. **Mouse Genome Sequencing Consortium.** Nature, v. 420, n. December, p. 520–562, 2002.

WISSE, B. The Inflammatory Syndrome: The Role of Adipose Tissue Cytokines in Metabolic Disorders Linked to Obesity. **J Am Soc Nephrol** 15: 2792–2800, 2004.

YIN, F.C.P. et. al. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. **Am J Physiol.** v. 243, ed. 6, December, p. H941-H947, 1982.

9. ANEXOS

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

PARECER CONSUBSTANCIADO

PROJETO Nº 070/2014

TÍTULO: Avaliação da suscetibilidade à Síndrome metabólica em um modelo murino para a natação após um período de inatividade física

RESPONSÁVEL: Luiza Antas Rabelo

OBJETIVO: Avaliar a suscetibilidade à síndrome metabólica dietética de um modelo murino para a natação após um período de inatividade física.

JUSTIFICATIVA (APROVAÇÃO, PENDÊNCIA, NEGAÇÃO):

O projeto apresenta boa proposta de pesquisa, com embasamento adequado, preenchendo todos os requisitos necessários para a aprovação.

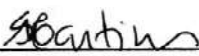
SITUAÇÃO: Aprovado

PERÍODO DE VIGÊNCIA: 02-2015 a 02-2018

DADOS DO ANIMAL:

| ESPÉCIE | LINHAGEM | QUANTIDADE |
|----------------------|-----------------|-------------------|
| Camundongo isogênico | C57BL/6 | 60 |

Maceió, 12 de fevereiro de 2015.


Silvana Ayres Martins

Coordenadora da CEUA/UFAL

Prof.ª Dr.ª Silvana Ayres Martins
Coordenadora da Comissão de
Ética no uso de Animais
SIAPE 1120858