

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCar  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS – PIPGCF – ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E MOTRICIDADE HUMANA

JOÃO MANOEL ALVES

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE ADIPOSIDADE VISCERAL, TECIDO  
ADIPOSO MARROM E PARÂMETROS METABÓLICOS DE RATOS WISTAR  
ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

SÃO CARLOS - SP

2020

JOÃO MANOEL ALVES

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE ADIPOSIDADE VISCERAL, TECIDO  
ADIPOSO MARROM E PARÂMETROS METABÓLICOS DE RATOS WISTAR  
ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas Associação Ampla UFSCar/UNESP, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração: Fisiologia do Exercício

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte

SÃO CARLOS - SP

2020

Alves, João Manoel

Efeitos do treinamento físico sobre adiposidade visceral, tecido adiposo marrom e parâmetros metabólicos de ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica. / João Manoel Alves -- 2020.  
95f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos  
Orientador (a): Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte  
Banca Examinadora: Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte, Wladimir Rafael Beck, Carmem Peres Valgas da Silva  
Bibliografia

1. Tecido Adiposo . 2. Treinamento Físico. 3. Obesidade.  
I. Alves, João Manoel. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325

# FOLHA DE APROVAÇÃO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

---

## Folha de Aprovação

---

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato João Manoel Alves, realizada em 15/07/2020.

### Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte (UFSCar)

Profa. Dra. Carmem Peres Valgas da Silva (OSU)

Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck (UFSCar)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado à minha melhor amiga, a minha segunda mãe, a minha irmã, Silvia Cristina Alves (*in memoriam*) que amo e sempre amarei por toda a minha vida. Saiba que aquilo que faço e continuo fazendo tem sempre um pedacinho de ti, porque você ainda vive dentro do meu coração. Espero um dia te reencontrar e contar todas as histórias que vivenciei nesse período sem você ao meu lado. Te amo.

## AGRADECIMENTOS

Talvez eu seja uma das poucas pessoas que leia a seção de agradecimentos das inúmeras dissertações e teses presentes nos diferentes repositórios nacionais e internacionais da imensidão virtual chamada internet. É comum me deparar com relatos de dificuldades misturado com sentidos antagônicos de tristeza e alegria. Mas, apesar de tudo isso, no final, tudo se resolve, o trabalho se encerra, o autor se torna mestre ou doutor, e um novo começo em sua vida se inicia. Assim dou início a essa seção de agradecimentos, relatando as minhas experiências durante esse período de mestrado, talvez, porque essa seja a única oportunidade que eu tenha de deixar registrado de maneira formal aquilo que vivenciei nesse período. Digo, que não foi fácil, mas também não foi impossível, e que apesar de todos os contratemplos e dificuldades de se realizar a chamada ciência, se me fosse dada uma nova oportunidade de escolha, ou seja, reviver novamente aquilo que já se passou tendo a memória dos fatos passados, eu com certeza escolheria o mesmo caminho a ser trilhado nessa louca vida acadêmica.

Após esse breve relato, início de fato os agradecimentos a todos aqueles que tiveram ao menos alguma participação direta ou indireta na realização deste trabalho. Não poderia começar de maneira diferente se não, agradecendo a minha mãe dona Maria, uma das tantas Silva que reside neste país, que mesmo ao passar pelas mais imensas dificuldades que uma mulher e principalmente uma mãe pode passar, retirou forças para me apoiar de um local que eu nunca saberei explicar. Penso, digo, e sempre repito, te amo sempre e sempre. Agradeço também ao meu irmão Edison pela ajuda e constante motivação em meus estudos, ao meu eterno cunhado Nobel, que se tornou um amigo e um irmão nessa vida, a minha cunhada Gabriela e aos meus sobrinhos que vivem me dando dor de cabeça Maria Eduarda e Artur.

Além dos familiares, esse trabalho também teve a contribuição de várias pessoas que conheci ao longo do mestrado. Começo agradecendo aos meus companheiros do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, Valter, Wilson, Phelipe, Jeferson pela parceria nesse período. Agradeço em especial, ao Diego pela ajuda e companheirismo ao longo de vários dias, meses e semestres cuidando dos animais; a Carla pelas conversas, apoio e conselhos que me fizeram permanecer dentro do eixo e não perder o foco, me ajudando muito em alguns momentos difíceis da vida e da pós-graduação, meu muito obrigado a você; ao grande mestre de Lima, ou Marco Antônio de Lima, que nos seus mais profundos e profanos pensamentos fisiológicos sempre me desafiou a querer aprender mais e conhecer mais sobre ciência, obrigado Marcão, e a Vanessa também pela convivência e auxílio neste período.

Também quero desejar meus sinceros agradecimentos aos inúmeros técnicos que me auxiliaram, ao Gustavo Oda da fisiologia, ao Claudinei da hidrobiologia e a Andreia da fisioterapia, muito obrigado. Ao técnico máster José Alves, ou Zé do Departamento de Educação Física, cara você ajudou demais na realização deste trabalho e, além disso, é um grande parceiro que levarei por toda a vida, obrigado Zé. Aos professores do PIPGCF pelo conhecimento e apoio quando necessitei, levarei parte deste adquirido com vocês junto comigo, também muito obrigado. Aos colegas do programa de pós-graduação, Aline, Carlão, Carlinhos, Will, entre outros, meu obrigado. A Cris e a Isa da fisioterapia pela ajuda com os animais e o projeto. Ao meu grande amigo Ramon Handerson, que me fez visualizar um novo caminho a cada dia sobre o que é ciência, e aonde ela pode levar, muito obrigado. A Camila Gatto, pela ajuda em inúmeras questões, obrigado. Aos meus amigos de São Carlos que me acolheram tão bem em sua casa, meu eterno obrigado Tiago e Julia pela parceria. Ao professor Leiria e ao Raphael Campos que abriram as portas da Unicamp e me permitiram conhecer um lugar incrível, que revigorou meu prazer pela ciência, muito obrigado.

Se todas essas pessoas tiveram uma parte na conclusão deste trabalho, isso ocorreu por que algum professor me aceitou como aluno. E sim, isso aconteceu mesmo esse professor não me conhecendo direito. Essa pessoa se chama Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte, e saiba professora Ana, que sempre contarei por toda a minha vida, sobre a sua resposta no e-mail que envie a você: “se você passar na prova de seleção, você será meu aluno”. Esse foi um dos melhores e-mails que já recebi na vida. Você abriu as portas para que eu pudesse iniciar o caminho para trilhar o meu sonho de ser cientista e trabalhar em um laboratório. Tu és uma pessoa incrível, de coração enorme, que teve paciência comigo e me mostrou os caminhos pelos quais eu deveria seguir. Talvez eu não tenha dito, mas a possibilidade de dar uma aula a graduação do curso de Educação Física da UFSCar, foi um dos momentos mais marcantes de minha trajetória. Ana muito obrigado por tudo, saiba que sempre poderá contar comigo, e sempre levarei um pedacinho de ti, da sua energia e de seu conhecimento junto a mim. Você é incrível, obrigado pela oportunidade.

Também agradeço aos animais que fizeram parte deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

## EPÍGRAFE

*“Sentiu um peso, mas não era o peso do fardo e sim da insustentável leveza do ser”.*

(Kundera, Milan. A insustentável leveza do ser)

*“O fardo mais pesado é, portanto, ao mesmo tempo a imagem da mais intensa realização vital. Quanto mais pesado o fardo, mais próxima da terra está nossa vida, e mais ela é real e verdadeira”.*

(Kundera, Milan. A insustentável leveza do ser)



## RESUMO

A obesidade é uma doença multifatorial que ocasiona inúmeros distúrbios metabólicos através da resposta inflamatória local e sistêmica engatilhada pelo remodelamento patológico do tecido adiposo branco (TAB) visceral. Ademais, a ativação de vias inflamatórias e o constante estado obesogênico ocasionado pelo consumo de dieta hiperlipídica altera a morfologia e o funcionamento do tecido adiposo marrom (TAM), um notável depurador metabólico que oxida na forma de calor diferentes substratos energéticos e contribui para a regulação da massa corporal e da homeostase energética. Não obstante, o treinamento físico é uma importante ferramenta não-farmacológica capaz de atenuar as consequências negativas da obesidade e preservar a flexibilidade metabólica de diferentes tecidos periféricos através da redução da adiposidade visceral. Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi investigar os efeitos do treinamento físico na massa do TAM, na adiposidade visceral e, em parâmetros metabólicos de ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica. Primeiramente, ratos Wistar machos adultos (n=23) foram separados em grupo controle alimentado com dieta padrão (CTR) e obeso alimentado com dieta hiperlipídica (OB). Após 12 semanas de indução da obesidade, os animais foram subdivididos entre quatro grupos: grupo controle sedentário (CTR-SED), controle treinado (CTR-TR), obeso sedentário (OB-SED) e obeso treinado (OB-TR). Os animais dos grupos treinados (CTR-TR e OB-TR) foram submetidos ao treinamento físico na modalidade natação por 8 semanas, no qual cada sessão de exercício físico foi composta por 60 minutos de duração, frequência de 3 vezes na semana, e intensidade equivalente entre 3 a 5% da massa corporal do animal. A morfologia da gordura epididimal (TAB visceral) foi verificada por meio de análise histológica; a adiposidade visceral através da pesagem dos depósitos de TAB epididimal, retroperitoneal e, mesentérico; a massa do TAM interescapular foi mensurada através de pesagem em balança analítica; e o conteúdo de glicogênio e lipídios no fígado e músculo sóleo foram obtidos através de métodos previamente estabelecidos na literatura. Nos resultados, observamos que a obesidade (OB-SED) aumentou a massa corporal, adiposidade visceral, promoveu hipertrofia dos adipócitos, deposição de lipídios ectópicos no fígado, diminuiu o conteúdo de glicogênio hepático, e elevou a massa relativa do TAM. O treinamento físico atenuou o ganho de massa corporal, reduziu a adiposidade intraperitoneal e reverteu a hipertrofia dos adipócitos, entretanto, não foi eficiente em reduzir o conteúdo de lipídios hepáticos e aumentar os estoques de glicogênio. Ademais, o treinamento físico independente da oferta energética aumentou a massa relativa do TAM, reduziu a sobreposição de gordura visceral sobre a gordura marrom e demonstrou uma correlação negativa com o conteúdo de

lipídios hepáticos. Em suma, concluímos que o treinamento físico reduz o ganho de peso e a adiposidade intraperitoneal de animais obesos, entretanto, esses efeitos não são acompanhados de mudanças na flexibilidade metabólica dos tecidos periféricos em utilizar ácidos graxos e glicose durante o trabalho celular. Ainda, o treinamento físico e a dieta hiperlipídica se mostram eficazes em elevar a massa do TAM, contudo, não sabemos se essa modificação morfométrica ocasionou uma assinatura termogênica (expressão da proteína desacopladora 1 - UCP1) ou de branqueamento dos adipócitos marrons. Assim, são necessários mais estudos para verificar as adaptações bioquímicas e morfológicas do TAB e TAM em animais obesos submetidos ao treinamento físico.

**Palavras chaves:** Obesidade. Dieta hiperlipídica. Treinamento físico. Tecido adiposo branco visceral. Tecido adiposo marrom. Flexibilidade metabólica.

## ABSTRACT

Obesity is a multifactorial disease that produces various metabolic disorders through the local and systemic inflammatory response occasioned by the pathological remodeling of visceral white adipose tissue (WAT). Furthermore, the activation of inflammatory pathways and the constant obesogenic state caused by the consumption of high-fat diet changes the morphology and function of the brown adipose tissue (BAT), a notable metabolic sink that oxidizes different energetic substrates in the form of heat and contributes to the regulation of the body mass and energy homeostasis. Notwithstanding, physical training is a non-pharmacological tool capable of decreasing the negative consequences of obesity and maintaining the metabolic flexibility of different peripheral tissues through decreasing visceral adiposity. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effects of physical training on BAT mass, visceral adiposity and on metabolic parameters of Wistar rats fed a high-fat diet. First, male adult Wistar rats were separated within a control group fed a standard diet (CTR) and obese fed a high-fat diet (OB). After 12 weeks of obesity induction, the animals were subdivided into four groups: sedentary control group (CTR-SED), trained control group (CTR-TR), sedentary obese (OB-SED) and trained obese (OB-TR). The animals of the trained groups (CTR-TR and OB-TR) were submitted to physical training by swimming modality for eight weeks, in which each session of physical exercise was composed of 60 minutes of duration, frequency of 3 times a week, and intensity equivalent between 3 to 5% of the animal's body mass. The morphology of the epididymal fat (visceral WAT) was verified through histological analysis; visceral adiposity by weighing the deposits of epididymal, retroperitoneal and mesenteric WAT; the mass of the interscapular BAT was measured by weighing on an analytical balance and the glycogen and lipid content in the liver and soleus muscle were obtained using previously established methods in the literature. In the results, we observed that obesity (OB-SED) increased body mass, visceral adiposity, promoted adipocyte hypertrophy, deposition of ectopic lipids in the liver, reduced hepatic glycogen content and increased BAT relative mass. Physical training attenuated body mass increase, intraperitoneal adiposity, and adipocyte hypertrophy; however, was not efficient in reducing liver lipid content and increasing glycogen stores. Besides, physical training independent of the energy diet increased the relative mass of BAT, reduced the overlap of visceral fat on brown fat, and showed a negative correlation with the content of liver lipids. In summary, we conclude that physical training reduces weight gain and intraperitoneal adiposity in obese animals; however, these effects are not accompanied by changes in the metabolic flexibility of peripheral tissues in using fatty acids and glucose during

cell activity. Furthermore, physical training and a high-fat diet are effective in increasing the mass of BAT, however, we do not know if this morphometric modification caused a thermogenic signature (expression of uncoupling protein 1 - UCP1) or whitening of brown adipocytes. Thus, further studies are needed to verify the biochemical and morphological adaptations of WAT and BAT in obese animals submitted to physical training.

**Keywords:** Obesity. High-fat diet. Physical training. White adipose tissue. Brown adipose tissue. Metabolic flexibility.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização dos principais depósitos de TAB e TAM em roedores e seres humanos .....	22
Figura 2 - Mecanismo dependente de UCP1 (canônico) do processo de termogênese adaptativa no TAM. ....	29
Figura 3 - Remodelamento saudável e patológico do TAB.....	34
Figura 4 - Hipóteses sobre os efeitos do treinamento físico e da obesidade. ....	45
Figura 5 - Desenho Experimental. ....	49
Figura 6 - Protocolos de adaptação e treinamento físico.....	51
Figura 7 – Ilustração das principais etapas durante o processo de treinamento físico. ....	52
Figura 8 - Micrótomo rotativo e os cortes do tecido adiposo epididimal emblocado na parafina. ....	53
Figura 9 – Etapas de extração e determinação do conteúdo de lipídios totais. ....	55
Figura 10 - Determinação do glicogênio hepático e muscular. ....	56
Figura 11 - Evolução da massa corporal. ....	58
Figura 12 - Análise da gordura intraperitoneal e do índice de adiposidade (IA). ....	60
Figura 13 - Massa relativa do músculo sóleo .....	61
Figura 14 - Massa relativa do fígado. ....	61
Figura 15 – Morfologia do TAB epididimal .....	62
Figura 16 – Fotomicrografia representativa dos adipócitos epididimal coradas com HE.....	63
Figura 17 - Conteúdo de lipídios no fígado e sóleo.....	64
Figura 18 - Conteúdo de glicogênio hepático e muscular. ....	65
Figura 19 - Efeitos do treinamento físico e da dieta hiperlipídica sobre a massa relativa do TAM, razão TAM/TAB visceral e correlação entre TAM e conteúdo de lipídios hepático. ....	74
Figura 20 - Resumo dos principais resultados encontrados no presente estudo.....	77

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Massa corporal e ganho de massa de ratos obesos e controles no início do experimento (semana 0), antes e após o treinamento físico. ....	58
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

12 HEPE.	12 hydroxyeicosapentaenoic acid
12,13 diHOME.	12,13-dihydroxy-9Z-octadecenoic acid
$\alpha 1$ .	Alfa 1 (adrenoceptor)
ADP.	Adenosina Difosfato
AgRP.	Proteína Relacionada ao Gene Agouti
AMPc.	3', 5' Monofosfato Cíclico
ANOVA.	Análise de Variância
ATF2.	Fator de Transcrição Ativador 2
ATGL.	Lipase de Triglicerídeos do Tecido Adiposo
ATP.	Adenosina Trifosfato
$\beta 3$ .	Beta 3 (adrenoceptor)
BMP8.	Proteína Morfogenética óssea 8
Browning.	Escurecimento
CART.	Transcrito Regulado por Anfetamina e Cocaína
CPT1 $\alpha$ .	Carnitina Palmitoil Transferase 1 alfa
CREB.	Proteína Liadora do Elemento Responsivo ao AMPc
CTR-SED.	Controle Sedentário
CTR-TR.	Controle Treinado
DAG.	Diacilglicerol
DIO 2.	Deiodinase 2
EROs.	Espécies Reativas de Oxigênio
FGF21.	Fator de Crescimento do Fibroblasto 21
GDP.	Guanosina Difosfato
GLUT 1/4.	Transportador de Glicose 1/4
HE.	Hematoxilina e Eosina
HOMA-IR.	Índice de Resistência a Insulina
IKK $\beta$ .	I $\kappa$ B Quinase Beta
IL-1 $\beta$ .	Interleucina 1 beta
IL-4/6/10/18.	Interleucina 4/6/10/18
IMC.	Índice de Massa Corporal
IP3.	Inositol 1,4,5 Trifosfato
IRF4.	Fator Regulador de Interferon 4

JNK.	c-Jun N-terminal Quinase
KOH.	Hidróxido de Potássio
LHS.	Lipase Hormônio Sensível
LPL.	Lipase Lipoproteica
MGL.	Monoacilglicerol Lipase
MHO.	Obesos Metabolicamente Saudáveis
MHU.	Obesos Metabolicamente Não-Saudáveis
Myf5 <sup>-</sup> .	Fator Miogênico 5 negativo
Myf5 <sup>+</sup> .	Fator Miogênico 5 positivo
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .	Sulfato de Sódio
NF-κβ.	Fator Nuclear-kappa Beta
OB-SED.	Obeso Sedentário
OB-TR.	Obeso Treinado
p38 MAPK.	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno p38
PGC-1α.	Coativador-1 Alfa do Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama
PIP2.	Fosfatidilinositol 4,5 Bifosfato
PKA.	Proteína Quinase A
PLC.	Fosfolipase C
POMC.	Pró-opiomelanocortina
PPARγ.	Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama
PPi.	Pirofosfato
Rpm.	Rotações por Minuto
SNS.	Sistema Nervoso Simpático
T3.	Triiodotironina
T4.	Tetraiodotironina
TAB.	Tecido Adiposo Branco
TAM.	Tecido Adiposo Marrom
TG.	Triglicérides
TLR4.	Receptor Toll do Tipo 4
TNFα.	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UCP1.	Proteína Desacopladora 1
VLDL.	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
Whitening.	Branqueamento



## **LISTA DE SIGLAS**

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DEFMH - Departamento de Educação Física e Motricidade Humana

LNMEF - Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício Físico

OMS - Organização Mundial da Saúde

UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Obesidade .....	20
1.2 Características funcionais e metabólicas do TAB e TAM .....	21
1.3 Todas as células no TAM apresentam a mesma capacidade termogênica? .....	24
1.4 Termogênese adaptativa e o papel do TAM na regulação da massa corporal e de parâmetros metabólicos associados a obesidade. ....	25
1.5 Inflamação metabólica induzida por dieta hiperlipídica.....	30
1.6 Remodelamento do TAB durante o processo de obesidade. ....	31
1.7 Impacto da dieta hiperlipídica no TAM: o processo de branqueamento (whitening) e da termogênese facultativa induzida por dieta. ....	34
1.8 Exercício físico como fator associado à melhora da saúde corporal. ....	37
1.9 Adaptações induzidas pelo exercício físico no TAB.....	38
1.10 Exercício físico: ativador ou inibidor do TAM? .....	40
2 HIPÓTESE .....	45
3 OBJETIVOS .....	47
3.1 Objetivo Geral .....	47
3.2 Objetivos Específicos .....	47
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.1 Considerações éticas.....	48
4.2 Animais.....	48
4.3 Protocolo de treinamento físico .....	49
4.4 Eutanásia.....	52
4.5 Análise Histológica. ....	53
4.6 Determinação do conteúdo de lipídios totais.....	54
4.7 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular .....	55
4.8 Análise estatística .....	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
5.1 PARTE 1: EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NA COMPOSIÇÃO CORPORAL, CONTEÚDO DE LIPÍDIOS E GLICOGÊNIO TECIDUAL.....	57
5.1.1 Caracterização temporal da massa corporal .....	57
5.1.2 Massa relativa da gordura intraperitoneal, sóleo e fígado. ....	59

5.1.3 Morfologia do TAB epididimal.....	62
5.1.4 Lipídios totais no fígado, músculo sóleo e gordura epididimal.....	63
5.1.4 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular .....	64
5.1.6 Discussão .....	66
5.2 PARTE 2: RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NO TAM .....	73
5.2.1 Massa relativa, razão TAM/gordura visceral e correlação com lipídios no fígado.....	73
5.2.2 Discussão.....	75
6 CONCLUSÃO.....	78
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	79
ANEXO .....	95

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Obesidade

A obesidade é uma doença crônica, de origem multifatorial que pode ser definida como uma condição de acúmulo anormal ou excessivo de gordura nos depósitos de tecido adiposo branco (TAB), que eleva consideravelmente o risco de produzir consequências negativas a saúde (AFSHIN et al., 2017; GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017). Considera um problema de saúde pública mundial, os principais fatores associados ao crescimento das taxas de sobrepeso e obesidade são as alterações nutricionais e comportamentais ocorridas nas últimas décadas (BRAY et al., 2018). A modificação do padrão dietético, especialmente através do elevado consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e açúcares simples em conjunto com a redução da prática de atividade física, ocasionam um balanço energético positivo e levam a alterações no controle hipotalâmico da fome e saciedade que favorecem o aumento da massa e adiposidade corporal, isto é, a obesidade (BRAY et al., 2018; GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011; JAIS; BRÜNING, 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2015, mais de 100 milhões de crianças estavam obesas e cerca de 605 milhões de indivíduos adultos apresentavam ao menos algum grau de obesidade, ou seja, um Índice de Massa Corporal (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> (WHO, 2016). No Brasil, a proporção de indivíduos obesos cresceu 68% entre 2006 e 2018, com 19,8% da população brasileira apresentando obesidade, e mais de 50% sendo classificados com sobrepeso (SAÚDE, 2019). Assim, sabendo que diversos estudos apontam que indivíduos obesos estão mais propícios ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e alguns tipos de carcinomas (DE PERGOLA; SILVESTRIS, 2013; ELLIES; JOHNSON; OLEFSKY, 2013; LANDSBERG et al., 2013), a criação de estratégias para combater e tratar essa doença são extremamente necessárias.

Um dos principais órgãos afetados durante o desenvolvimento da obesidade e que se apresenta intimamente relacionado às comorbidades ocasionado pelo excesso de massa corporal é o TAB (KAHN; WANG; LEE, 2019). Na presença de uma elevada ingestão calórica em relação ao gasto energético, o balanço energético torna-se desequilibrado. Com o avanço desse desequilíbrio energético, o processo de lipogênese (acúmulo de gordura na forma de TG no tecido adiposo) se sobressai em relação ao de lipólise (quebra enzimática da gordura armazenada como TG nos adipócitos) (KAHN; WANG; LEE, 2019). Nesta situação, os adipócitos brancos se hipertrofiam e se tornam mais propícios a instalação de um estado

inflamatório subclínica de baixo grau não-infeccioso (KAHN; WANG; LEE, 2019). A expansão ou remodelamento patológico dos adipócitos brancos é acompanhada de inúmeras alterações estruturais e funcionais que favorecem o desenvolvimento de resistência à insulina, deposição de gordura ectópica, e por consequência a síndrome metabólica (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019; KAHN; WANG; LEE, 2019).

Embora seja conhecido o papel da obesidade na produção de alterações que prejudicam o funcionamento dos adipócitos brancos, pouco se sabe sobre os seus efeitos nas células de gordura termogênicas (adipócitos marrom e bege). Desse modo, se faz necessário a compreensão do funcionamento dos diferentes tipos de tecido adiposo e consequentemente suas ações no processo de obesidade.

## 1.2 Características funcionais e metabólicas do TAB e TAM

O tecido adiposo representa um tipo especial de tecido conectivo frouxo composto por inúmeras células rodeadas por capilares e redes neurais (CINTI, 2019; RODRÍGUEZ et al., 2015). Os adipócitos são o principal tipo celular encontrado neste tecido. Sua função se baseia no armazenamento de energia na forma de TG. Essas células são derivadas de pré-adipócitos oriundos das células tronco mesenquimais residentes no próprio tecido adiposo (ARNER et al., 2010, 2019; ROSEN; SPIEGELMAN, 2014). Além dos adipócitos, a fração do estroma vascular que representa um conjunto de células como pré-adipócitos, células tronco mesenquimais, células progenitoras endoteliais, células T, células B, mastócitos e macrófagos, também está presente no tecido adiposo (FUSTER et al., 2016; CINTI, 2019).

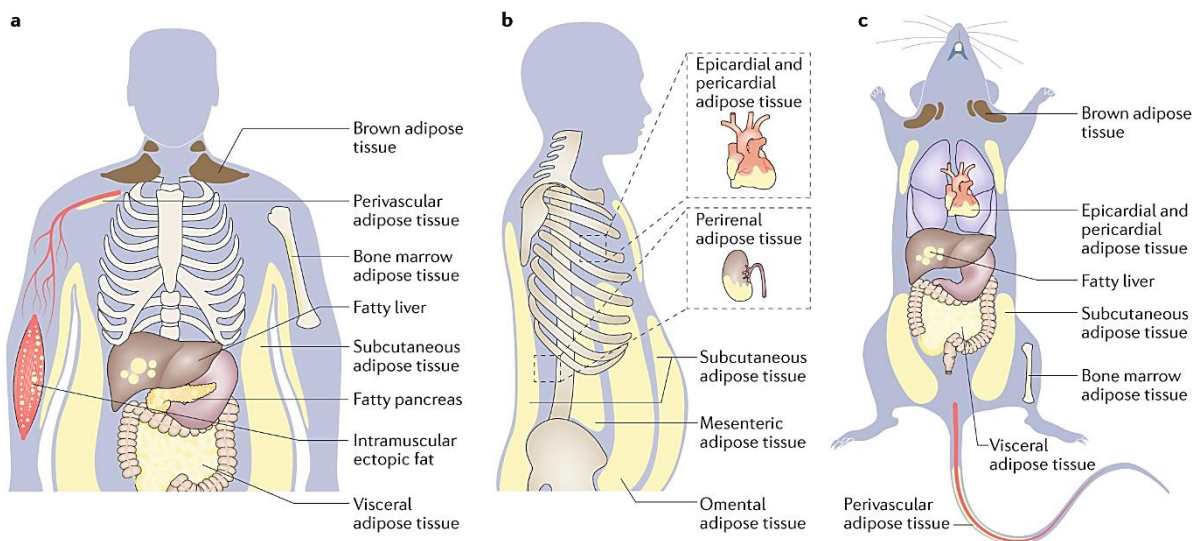
Em mamíferos, os adipócitos apresentam diferenças metabólicas, estruturais e funcionais entre si, sendo categorizados em três tipos: **(i)** adipócitos brancos que formam o TAB, cuja função primária é armazenar energia e regular a homeostase energética; **(ii)** adipócitos marrons que constituem o TAM, e mantêm a temperatura corporal de mamíferos homeotérmicos através do processo de termogênese sem tremores e; **(iii)** adipócitos beges que surgem pós-nascimento e demonstram função bifásica, podendo assumir características fenotípicas semelhantes ao TAB (estoque de lipídios) ou TAM (termogênese adaptativa) dependendo do estímulo empregado, sendo assim, induzido e não-constitutivo (CINTI, 2019; DEWAL; STANFORD, 2019; NEDERGAARD; CANNON, 2018). Juntos, estes depósitos de tecido adiposo são denominados de órgão adiposo (CINTI, 2019).

Anatomicamente, o TAB é predominantemente localizado na cavidade visceral revestindo órgãos, tecidos e vasos sanguíneos e, na camada subcutânea presente na região

cranial, facial, interescapular, abdominal, femoral e glútea de seres humanos (GESTA; KAHN, 2017; QUAIL; DANNENBERG, 2019). Em roedores os principais depósitos de TAB são encontrados na região intraperitoneal (TAB epididimal, TAB retroperitoneal e TAB mesentérico), e na região subcutânea inguinal, anterior axilar e interescapular (LEHNIG et al., 2019).

Ao contrário do TAB, o TAM foi inicialmente identificado como uma defesa contra a hipotermia em recém-nascidos (CANNON; NEDERGAARD, 2004). Adipócitos marrons clássicos desenvolvem-se no pré-natal e existem predominantemente na região interescapular e perirenal de roedores (CYPESS et al., 2009; DE JONG et al., 2019; LEHNIG et al., 2019). Em humanos adultos, os depósitos interescapular de TAM desaparecem, sendo encontrados principalmente na região cervical e supraclavicular (SIDOSSIS, KAJIMURA, 2015). A figura 1 apresenta os principais depósitos de TAB e TAM em roedores e seres humanos.

Figura 1 - Localização dos principais depósitos de TAB, TAM e deposição de TG em roedores e seres humanos obesos.



No painel **a** são apresentados os principais depósitos de TAB visceral, subcutâneo e TAM de uma vista frontal, o painel **b** representa os principais depósitos de gordura visceral de uma vista lateral, e o painel **c** mostra a distribuição geral de TAB e TAM em roedores a partir de uma posição supina. Fonte: (QUAIL; DANNENBERG, 2019).

Morfologicamente, o TAB é representado por uma única gotícula lipídica citoplasmática presente em quase 90% do volume celular, por um núcleo próximo a membrana plasmática, um reduzido número de mitocôndrias, e uma baixa taxa oxidativa que contribui para a sua principal função de armazenamento de energia na forma de TG (CINTI, 2019). Em contraste, adipócitos marrons maduros são células poligonais menores que os adipócitos brancos (1/3) com várias

pequenas gotículas lipídicas (multilocular) que armazenam TG, rodeadas por um núcleo central esférico, uma rica vascularização, densa inervação, e composto por numerosas mitocôndrias contendo proteínas altamente especializadas que, em resposta ao frio e/ou status nutricional são capazes de dissipar o excesso de energia química (TG e glicose) na forma de calor (CANNON; NEDERGAARD, 2004; ROSEN; SPIEGELMAN, 2014). Este processo é denominado de termogênese sem tremores, e ocorre através da ação da proteína desacopladora 1 (UCP1), um membro da família de proteínas carreadoras mitocondriais (CANNON; NEDERGAARD, 2004; DEMINE; RENARD; ARNOULD, 2019) que catalisa o vazamento de prótons através da membrana mitocondrial interna, desacoplando assim, a síntese de ATP mitocondrial para a geração de calor (DEMINE; RENARD; ARNOULD, 2019; ROSEN; SPIEGELMAN, 2014).

Adicionalmente, a exposição crônica a baixas temperaturas (frio) ou o uso de fármacos agonistas  $\beta$ 3-adrenérgicos, podem estimular o recrutamento *de novo* e/ou a *transdiferenciação* de precursores celulares em células maduras com características fenotípicas semelhantes aos adipócitos marrons (chamado de marrom induzível, bege, ou brite – brown-in-white) nos depósitos de TAB (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019). Esta característica, frequentemente conhecida como “beiging” ou “browning” (escurecimento, em português) é reversível após a retirada do estímulo termogênico, como o retorno dos animais a termoneutralidade ou através do consumo de dieta hiperlipídica (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019; HARMS; SEALE, 2013). O aumento da massa de adipócitos beiges está intimamente associada a melhora da homeostase sistêmica da glicose e da sensibilidade a insulina (SIDOSSIS; KAJIMURA, 2015).

Parte das diferenças morfológicas e funcionais entre o TAB e TAM ocorrem durante o processo de desenvolvimento do tecido adiposo. Em geral, todos os adipócitos são derivados da mesoderme e apresentam diferentes precursores adipogênicos, com adipócitos brancos e beiges sendo derivados da mesoderma lateral, a partir de pré-adipócitos negativos para fator miogênico 5 (Myf5-negativo, do inglês myogenic factor 5), enquanto o adipócito marrom tem como linhagem adipogênica pré-adipócitos com origem no mesoderma paraxial, positivos para fator miogênico 5 (Myf5-positivo), o mesmo precursor responsável pela diferenciação de células musculares (PARK, 2014).

Apesar das diferenças morfológicas e anatômicas, TAB e TAM compartilham da capacidade de secretar uma variedade de moléculas, tais como adipocinas e batocinas, respectivamente, que facilitam a comunicação entre os órgãos periféricos e participam da regulação da homeostase energética, caracterizando ambos como importantes órgãos neuroimunendócrinos (LARABEE; NEELY; DOMINGOS, 2019; LEIRIA et al., 2019; VILLARROYA et al., 2017).

### 1.3 Todas as células no TAM apresentam a mesma capacidade termogênica?

Recentemente, o debate sobre a heterogeneidade celular presente no TAM vem ganhando destaque no meio científico (CINTI et al., 2002; OGURI; KAJIMURA, 2020; SONG et al., 2020). Como demonstrando no tópico anterior (1.2), o tecido adiposo não é um órgão monolítico e inerte, composto de uma população celular homogênea que compreende apenas a função de estocadora ou propulsora de lipídios de acordo com o status nutricional (OGURI; KAJIMURA, 2020). Na verdade, está bem claro que cada depósito de tecido adiposo contém uma variedade de células de gordura, que emergem de diferentes precursores adipogênicos e executam funções além das iniciais propostas anteriormente.

Neste sentido, prévios estudos têm demonstrando a possibilidade da existência de subpopulações de adipócitos marrons dentro do TAM, que poderiam ser divididos em adipócitos com baixa ou alta capacidade termogênica (CINTI et al., 2002; OGURI; KAJIMURA, 2020; SONG et al., 2020). Esta hipótese partiu dos estudos do grupo do professor Cinti no início do século, ao demonstrarem que o tratamento com um fármaco  $\beta$ 3-agonista (CL316,243) ou a exposição ao frio em ratos previamente aclimatados à termoneutralidade, levava a uma sobreposição no padrão de distribuição da expressão do mRNA da UCP1, com baixos e elevados níveis sendo encontrados, postulando a heterogeneidade celular do TAM, e denominando o fenômeno como “Harlequin” (CINTI et al., 2002).

Recentemente, Song e colaboradores (2020) analisaram a heterogeneidade celular no TAM interescapular de camundongos utilizando de técnicas como single-cell RNA (SONG et al., 2020). Inicialmente para compreender a dinâmica *in vivo* dos adipócitos marrons, os autores utilizaram de um modelo animal (AdipoChaser-LacZ) especializado na marcação permanente e induzível de células que expressam adiponectina, como as células LacZ<sup>+</sup> (SON et al., 2019). Resumidamente, os resultados apontaram para uma população de adipócitos marrons com baixa atividade termogênica, caracterizados pela redução na expressão de genes relacionados a fosforilação oxidativa, ao receptor  $\beta$ 3-agonista, lipólise, glicólise, oxidação de ácidos graxos, ao ciclo tricarboxílico, a termogênese, ao estresse oxidativo, e demonstram menor expressão de adiponectina quando expostos ao frio, intercaladas com adipócitos marrons com alta atividade termogênica e elevada expressão de adiponectina. Coletivamente, os autores sugerem a presença de duas subpopulações de adipócitos marrons com diferentes funções celulares e características metabólicas que refletem em sua capacidade termogênica (SON et al., 2020; OGURI; KAJIMURA, 2020).



Se o TAM interescapular de camundongos apresenta uma heterogeneidade celular, teria esse, as mesmas características morfológicas e termogênicas do TAM encontrado em seres humanos adultos?

Diversos grupos de pesquisa começaram a investigar as semelhanças e possíveis diferenças morfológicas e moleculares existentes entre o TAM de seres humanos e roedores, especialmente após a comprovação da existência deste tecido em seres humanos adultos (CYPESS et al., 2009, 2013; VAN MARKEN LICHTENBELT et al., 2009; VIRTANEN et al., 2009). Estudos prévios sugeriram que os adipócitos beges subcutâneos ao invés do clássico TAM interescapular de roedores, possuíam as características mais similares aos depósitos de TAM encontrados em seres humanos (CYPESS et al., 2013; JESPERSEN et al., 2013; SHARP et al., 2012). Contudo, de Jong e colaboradores (2019) demonstraram que o TAM interescapular de camundongos fisiologicamente humanizados, isto é, alojados em termoneutralidade (30°C) e expostos a dietas hipercalóricas (ricas em lipídios e/ou carboidratos) apresentam características morfológicas similares às encontradas na região supraclavicular de seres humanos, sendo ambos, compostos por adipócito unilocular e multilocular (DE JONG et al., 2019). Além disso, o potencial termogênico do TAM é retido em camundongos humanizados, apresentando níveis de mRNA do gene UCP1 praticamente idênticos aos observados em seres humanos adultos (DE JONG et al., 2019).

Dessa forma, ao comparar o padrão da expressão gênica entre o TAM e os adipócitos beges em animais fisiologicamente humanizados demonstrou-se que o TAM interescapular de roedores, ao invés dos adipócitos beges, é homólogo ao TAM de seres humanos adultos (DE JONG et al., 2019).

#### 1.4 Termogênese adaptativa e o papel do TAM na regulação da massa corporal e de parâmetros metabólicos associados a obesidade.

Como demonstrado anteriormente (tópico 1.1), o conceito básico da indução da obesidade é o desequilíbrio energético, na qual, a ingestão de energia dos alimentos excede cronicamente o gasto energético (KHAN; WANG; LEE, 2019). Uma terapia para a perda de peso deve, portanto, envolver uma diminuição na ingestão de alimentos e/ou elevação no gasto energético, nesse caso, podendo ocorrer principalmente pelo aumento dos níveis de atividade física, pela conversão de células armazenadoras de gordura em células termogênicas metabolicamente ativas (adipócitos beges) ou, pelo recrutamento, ativação e proliferação do TAM (SEALE; LAZAR, 2009). O TAM é um órgão termogênico capaz de produzir uma

ineficiência metabólica que apresenta uma importante função na manutenção da temperatura corporal de mamíferos homeotérmicos e na regulação do balanço energético de seres humanos (CANNON; NEDERGAARD, 2004; CHONDRONIKOLA et al., 2016). Além de regular o processo de termogênese adaptativa, isto é, de aumentar o gasto energético acima dos níveis basais para preservar a temperatura corporal em resposta ao frio ou em condições de excesso de energia (CANNON; NEDERGAARD, 2004; YONESHIRO et al., 2013), o TAM também apresenta atividade endócrina capaz de regular a flexibilidade metabólica (LEIRIA et al., 2019; LYNES et al., 2017; SCHEIDELER; HERZIG; GEORGIADI, 2017). Flexibilidade metabólica se refere à resposta metabólica de um organismo perante alterações condicionais, como o jejum periódico, a composição variável das refeições, o exercício físico ou a obesidade (GOODPASTER; SPARKS, 2017). Ambos os processos de termogênese adaptativa e flexibilidade metabólica demonstram importantes funções na prevenção e no desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares (GOODPASTER; SPARKS, 2017; SMITH et al., 2018).

O TAM se demonstra um importante órgão capaz de regular o balanço energético e a flexibilidade metabólica. Isso se deve em razão da sua ação direta como dissipador metabólico (termogênese) da glicose, ácidos graxos e aminoácidos de cadeia ramificada ou, indireta (atividade endócrina) através da secreção de batocinas que atuam nos próprios adipócitos marrons ou em diferentes tecidos periféricos como o músculo esquelético (BARTELT et al., 2011; LEIRIA et al., 2019; CHOUCANI; KAJIMURA, 2019; YONESHIRO et al., 2019). Estes efeitos aumentam o gasto energético e a depuração do excesso de substratos energéticos circulantes, levando a melhora da tolerância a glicose e do metabolismo dos lipídios e aminoácidos em seres humanos e roedores (BARTELT et al., 2011; CHONDRONIKOLA et al., 2016; YONESHIRO et al., 2019). Dessa forma, o TAM se tornou alvo de interesse de inúmeros pesquisadores como uma possível ferramenta terapêutica para o tratamento da obesidade e de distúrbios metabólicos como a resistência à insulina, dislipidemia e a diabetes mellitus tipo 2 (LEIRIA et al., 2019; SIDOSSIS; KAJIMURA, 2015).

De fato, a atividade termogênica do TAM está associada a resistência ao ganho de massa corporal em roedores alimentados com dieta hiperlipídica (FELDMANN et al., 2009; ROTHWELL; STOCK, 1979), ao aumento do gasto energético e da redução da massa corporal em seres humanos adultos expostos ao frio (YONESHIRO et al., 2013), e a manutenção de um fenótipo metabolicamente saudável em indivíduos obesos (MIHALOPOULOS et al., 2020).

De maneira simplificada, o potencial termogênico e metabólico do TAM advém principalmente da descarga simpática originada na área pré-óptica hipotalâmica através da

exposição de roedores e seres humanos ao frio ou mediante alterações no status nutricional (CANNON; NEDERGAARD, 2004; FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020; MORRISON; MADDEN; TUPONE, 2012). Após ser liberada pelo terminal neural pós-sináptico que inerva os adipócitos marrons, noradrenalina se liga ao receptor  $\beta$ 3-adrenérgico na superfície da membrana plasmática do TAM dando início a uma cascata sinalizadora mediada por segundos mensageiros (CANNON; NEDERGAARD, 2004).

Receptores  $\beta$ 3-adrenérgicos pertencem a uma classe de receptores acoplados a proteína G que, quando ativados pela noradrenalina sofrem uma mudança conformacional em sua estrutura levando a dissociação da subunidade G-proteica (no TAM do subtipo Gs) (CANNON; NEDERGAARD, 2004). A proteína Gs sucessivamente ativa adenil ciclase, uma enzima que catalisa a conversão de ATP em 3', 5' – monofosfato cíclico cAMP (AMPC) e pirofosfato (PPi), onde AMPC atua como segundo mensageiro nos adipócitos marrons, sendo importante para a regulação metabólica e geração de calor. Entre outras respostas, aumentos nos níveis de AMPC estimula a expressão da enzima deiodinase 2 (DIO 2), uma molécula chave para a conversão de tetraiodotironina (T4) em triiodotironina (T3), e presente também na regulação da expressão de UCP1 e do processo de termogênese (CANNON; NEDERGAARD, 2004). As concentrações de AMPC são determinadas pela taxa de síntese de adenil ciclase e pela degradação através da enzima fosfodiesterase (COUDRAY et al., 1999). Elevações no nível de AMPC ativam a proteína quinase A (PKA) pela ligação a sua subunidade reguladora (CANNON; NEDERGAARD, 2004). PKA é uma quinase chave para a regulação do processo de lipogênese e lipólise nos adipócitos e demonstra efeitos agudos e crônicos no TAM (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019).

Durante a ativação aguda do TAM, a PKA aumenta a taxa de lipólise através da ativação da enzima lipase de triglicerídeos do tecido adiposo (ATGL), lipase hormônio sensível (LHS), e monoacilglicerol lipase (MGL), levando a hidrólise dos TG nas gotículas multiloculares e o lançamento de ácidos graxos livres, sendo subsequentemente transportados para a mitocôndria a partir da carnitina palmitoil transferase 1 alfa (CPT1 $\alpha$ ) antes de serem oxidado e liberados na forma de calor (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019).

A estimulação crônica do TAM faz com que a PKA também fosforile fatores de transcrição no núcleo dos adipócitos marrons, como a Proteína Liadora do Elemento Responsivo ao AMPC (CREB) e a Proteína Quinase Ativada por Mitógeno p38 (p38 MAPK) que, sucessivamente estimula a secreção de genes termogênicos como o Fator de Transcrição Ativador 2 (ATF-2), Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ) e o Coativador-1 Alfa do Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PGC-1 $\alpha$ ).

Em conjunto, a ativação crônica da PKA promove o aumento na biogênese mitocondrial (PGC-1 $\alpha$ ), elevação dos níveis proteicos de UCP1 (CREB, ATF-2), hiperplasia e hipertrofia do TAM (CANNON; NEDERGAARD, 2004; SYMONDS, 2012; VILLARROYA; PEYROU; GIRALT, 2017).

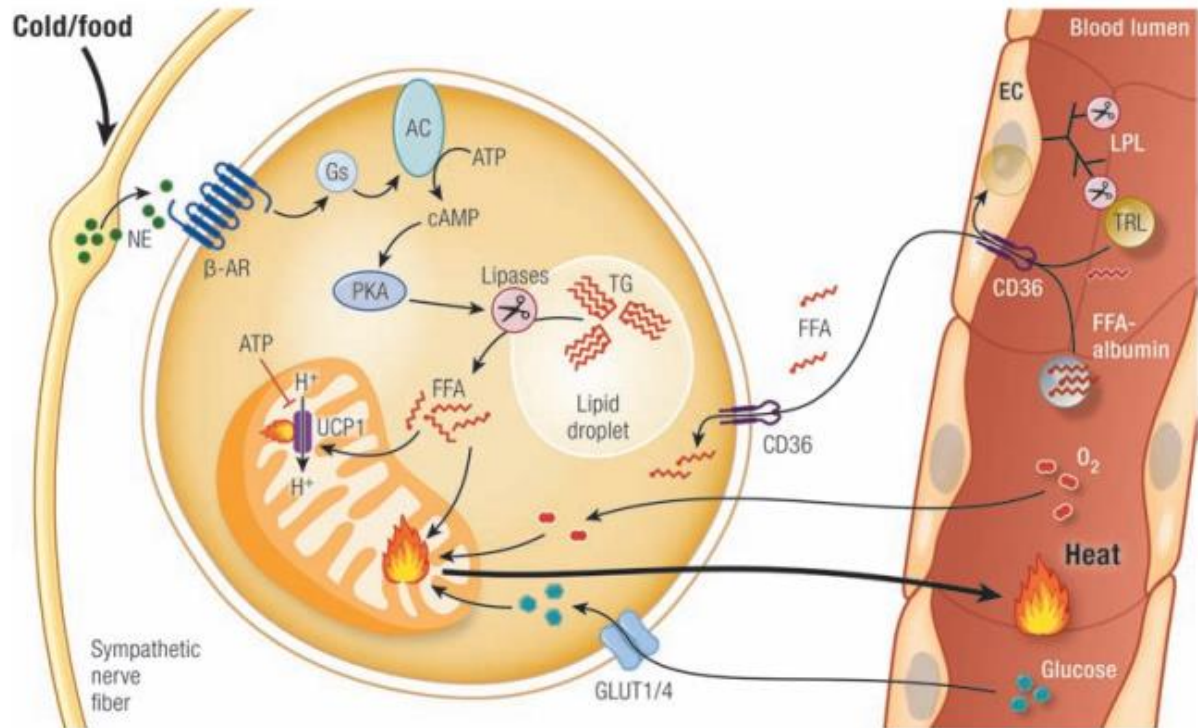
Receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos presentes no TAM quando ativados por noradrenalina também promovem resposta termogênica. Estes receptores vinculados à proteína Gq induzem a fosforilação da fosfolipase C (PLC) e a subsequente hidrólise de fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP2) em inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG), o que em geral, aumenta as concentrações de cálcio intracelular, sendo este um possível modulador termogênico (KLINGENSPOR et al., 2017). Já o receptor  $\alpha$ 2, encontra-se acoplado a proteína G inibidora, o que resulta na redução da atividade da enzima adenil ciclase pelos receptores  $\beta$ 3 e inibição da atividade termogênica do TAM (KLINGENSPOR et al., 2017).

Uma vez ativada pela descarga adrenérgica (via receptores  $\beta$ 3 principalmente) e, na presença de ácidos graxos livres de cadeia longa, a UCP1 presente na membrana mitocondrial interna dos adipócitos marrons cria um caminho alternativo para os prótons gerados na cadeia respiratória, catalizando o vazamento de prótons destinados a síntese de ATP pela ATP sintase, para a liberação de energia química na forma de calor (CANNON; NEDERGAARD, 2004). Este processo de ineficiência metabólica é denominado de “desacoplamento” da fosforilação oxidativa a partir da síntese de ATP e, está associado a aumentos na taxa de oxidação dos substratos energéticos e produção de calor celular (termogênese adaptativa) (GAUDRY; JASTROCH, 2019).

A manutenção da atividade termogênica pelo TAM ativo requer uma grande quantidade de combustível e oxigênio (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020). Os nutrientes circulantes são absorvidos a partir de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, como lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e quilomícrons, que inicialmente são catalizados pela enzima lipase lipoproteica (LPL) em ácidos graxos livres e monoacilglicerol, e posteriormente captados pelo TAM através da ação do transportador de ácido graxo CD36 nas células endoteliais e no adipócito marrom, que também pode internalizar partículas inteiras de lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Ácidos graxos livres circulantes ligados a proteína albumina também podem ser absorvidos pelo TAM. Outra fonte importante de combustível são os precursores da *de novo* lipogênese como a glicose circulante, que é absorvida por vias dependentes do transportador de glicose 1 e 4 (GLUT 1/4). Uma grande quantidade de oxigênio também é absorvida pelo TAM, tendo assim como produto final a geração de calor, que é liberado e distribuído no corpo pela

circulação sanguínea (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020). Alguns desses processos são apresentados resumidamente na figura 2.

Figura 2 - Mecanismo dependente de UCP1 (canônico) do processo de termogênese adaptativa no TAM.



A inervação noradrenérgica que irriga o TAM é hiperativada no frio ou em mudanças do status nutricional (termogênese facultativa induzida por dieta), passando a liberar grandes quantidades de noradrenalina nas terminações nervosas, estimulando então receptores  $\beta$ 3-adrenérgicos que medeiam o aumento da expressão de UCP1 e a produção de calor. Para mais detalhes vide texto (tópico 1.4). Fonte: (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020).

A termogênese também pode ser ativada indiretamente por inúmeros hormônios além das catecolaminas, tais como peptídeos natriuréticos lançados pelo coração (SHI; COLLINS, 2017), hormônios tireoidianos (DITTNER et al., 2019), miocinas como irisina (envolvida também no processo de escurecimento dos adipócitos brancos) (BOSTRÖM et al., 2012); ácidos biliares (WATANABE et al., 2006); fator de crescimento do fibroblasto 21 (FGF21) (VILLARROYA; VIDAL-PUIG, 2013), proteína morfogenética óssea 8 (BMP8) (WHITTLE et al., 2012), e melatonina (HALPERN et al., 2019). Trabalhos recentes têm sugerido que mudanças no status redox celular, principalmente a geração das espécies reativas de oxigênio (EROs) também podem resultar na ativação do TAM (CHOUCHANI et al., 2016), tanto quanto, algumas substâncias alimentares como a capsaicina e a cafeína (VELICKOVIC et al., 2019; YONESHIO et al., 2013).

### 1.5 Inflamação metabólica induzida por dieta hiperlipídica.

Sabe-se que a obesidade predispõe o desenvolvimento de inúmeras doenças metabólicas, tendo como agente central a instalação de um quadro inflamatório subclínico de baixo grau não-infeccioso ou metainflamação (HOTAMISLIGIL, 2017). Esta resposta inflamatória metabólica pode ser definida como o caos energético ocasionado pelo excesso de nutrientes fornecido pela dieta hiperlipídica, que resulta na ativação de inúmeras cascatas de sinalização inflamatória, estresse oxidativo, resistência à insulina, e em alterações estruturais, como a presença de estresse no retículo endoplasmático em tecidos metabolicamente ativos (JAIS; BRÜNING, 2017; KEANE et al., 2017).

Tal estado inflamatório difere da clássica inflamação de alto grau ocasionada por processos infecciosos ou lesões teciduais. Essas diferenças se devem especialmente pela ausência (inflamação metabólica) ou presença (inflamação infecciosa) dos sinais clínicos característicos da resposta inflamatória, tais como dor, calor, rubor, tumor e quando persistente perda da função tecidual (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011). De forma resumida, durante a inflamação de alto grau, a presença de um patógeno resulta na ativação de receptores do tipo *Toll* localizados em células do sistema imune, tais como macrófagos e monócitos, através da interação de lipopolissacarídeos presentes na parede de bactérias gram-negativas com receptores do tipo *Toll* (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011; HOTAMISLIGIL, 2017). Esta interação ocasiona uma resposta rápida, forte e direta, mas frequentemente curta causando a eliminação do patógeno e interrompendo a resposta inflamatória, permitindo assim a sobrevivência do organismo (HOTAMISLIGIL, 2017).

Contudo, durante a obesidade o processo inflamatório permanece por um longo período de tempo, sendo assim referido como de baixo grau e crônico (KEANE et al., 2017). Esta condição é principalmente engatilhada por nutrientes e metabólitos, e ativam um similar conjunto de moléculas e vias sinalizadoras que estão envolvidas na clássica inflamação de alto grau (HOTAMISLIGIL, 2017). Um dos principais fatores que permeiam essa resposta inflamatória, é a presença de receptores do tipo *Toll* nos adipócitos e células do sistema imune, que podem ser ativados diretamente por nutrientes, especialmente os ácidos graxos saturados derivados dos alimentos ultraprocessados e hiperpalatáveis, ou, por meio dos ácidos graxos livres não-esterificados liberados em grandes concentrações na circulação sanguínea pelos adipócitos brancos hipertrofiados (KAHN; WANG; LEE, 2019). Estes nutrientes promovem a inflamação através de vias de sinalização dependentes e independentes dos receptores tipo *Toll*, e ativam vários efetores inflamatórios, tais como Fator Nuclear-kappa Beta (NF- $\kappa$ B), IkB

quinase beta (IKK $\beta$ ), c-Jun N-terminal quinase (JNK), espécies reativas de oxigênio, e inflamassoma, um complexo proteico que permite a maturação de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 $\beta$  e IL-18 pela clivagem mediada por caspase 1, uma parte integral da imunidade inata (HOTAMISLIGIL, 2017; TENG et al., 2014).

A instalação desse quadro inflamatório induzido por dieta hiperlipídica ocasiona desarranjos metabólicos em inúmeros tecidos corporais, como no hipotálamo e tecido adiposo, especialmente por induzirem resistência à insulina e a leptina (PAHLAVANI et al., 2017; TENG et al., 2014). No hipotálamo, o elevado consumo de ácidos graxos saturados de cadeia longa, tais como palmitato e o esterato, são capazes de cruzar a barreira hematoencefálica e acumular especificamente nessa região cerebral, induzindo uma resposta imune da micróglia, que produz uma variedade de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, que inibe a sinalização anorexígena gerada pela insulina e leptina nos neurônios POMC/CART (pró-opiomelanocortina/transcrito regulado por anfetamina e cocaína) (JAIS; BRÜNING, 2017). Além disso, esse tipo de ácido graxo saturado engatilha a ativação da sinalização da cascata inflamatória no hipotálamo via receptores do tipo *Toll* 4 (TLR4), aumentando a ação dos neurônios AgRP/NPY (proteína relacionada ao gene agouti/neuropeptídeo Y), conduzindo a hiperfagia, redução do gasto energético, e ao desenvolvimento da resistência à insulina e leptina hipotalâmica, favorecendo o aumento da massa e da adiposidade corporal (JAIS; BRÜNING, 2017). Os efeitos hipotalâmicos desfavoráveis ocasionados pela dieta hiperlipídica se iniciam nas primeiras 24 horas após o seu consumo, antes de alterações periféricas associadas a obesidade se manifestarem (JAIS; BRÜNING, 2017).

#### 1.6 Remodelamento do TAB durante o processo de obesidade.

O tecido adiposo é considerado um dos órgãos mais plásticos e dinâmicos do corpo humano (ROSEN; SPIEGELMAN, 2014). Em situações de balanço energético positivo, o órgão adiposo se remodela para armazenar a maior quantidade possível de energia, e evitar a deposição de lipídios de forma ectópica no parênquima de tecidos como fígado, músculo e pâncreas (lipotoxicidade) (CINTI, 2019). Essa habilidade ocorre a partir de dois principais mecanismos de expansão: o aumento da célula adiposa (hipertrofia) e/ou do número celular (hiperplasia) (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019). Apesar da quantidade total de adipócitos ser determinando principalmente nos estágios iniciais da vida e se estabilizar na adolescência, aparentemente ambos os processos (hipertrofia e hiperplasia) coexistem no tecido adiposo, com

o número de adipócitos podendo ser aumentado também na fase adulta (ARNER et al., 2010, 2019).

Na situação de balanço energético positivo, os depósitos de tecido adiposo se expandem inicialmente pelo processo de hipertrofia até um determinado limiar ser alcançado (~0,7-0,8  $\mu\text{g}/\text{cell}$ ). Neste momento, uma cascata sinalizadora estimula o recrutamento de células progenitoras (pré-adipócitos) a gerar novos adipócitos (KROTKIEWSKI et al., 1983). Estudos mostram que em camundongos *ob/ob* os depósitos subcutâneos e visceral se expandem cerca de 7 e 6 vezes, respectivamente em comparação aos controles magros (MURANO et al., 2008). Em seres humanos, dados apontam um incremento de 1,6 vezes no tecido subcutâneo e 2,6 vezes no tecido visceral de sujeitos obesos em relação a indivíduos magros (CAMASTRA et al., 2017).

Apesar da expansão do tecido adiposo, isto é, a adiposidade estar associada com distúrbios metabólicos como a resistência à insulina e doenças cardiovasculares, existem sujeitos obesos (1 em cada 3) que não demonstram todas as alterações anatômicas e fisiológicas que caracterizam a expansão patológica do tecido adiposo, ou seja, adiposopatia (DENIS; OBIN, 2013). Esse grupo pertence à classe dos denominados *obesos metabolicamente saudáveis (MHO)*, um conjunto de pessoas com elevado IMC ( $>35\text{kg}/\text{m}^2$ ) que apresenta adiposidade visceral reduzida, níveis elevados de adiponectina secretados principalmente pelo TAB subcutâneo, redução da presença de fibrose e inflamação nos adipócitos viscerais, e manutenção da flexibilidade metabólica, fatores esses inversos aos observados em sujeitos *obesos metabolicamente não-saudáveis (MHU)* (DENIS; OBIN, 2013; SMITH; MITTENDORFER; KLEIN, 2019). Não há uma classificação universal para definir um sujeito obeso entre metabolicamente saudável e não-saudável (SMITH; MITTENDORFER; KLEIN, 2019). As mais utilizadas levam em consideração a presença ou ausência de ao menos 2 parâmetros associados a síndrome metabólica ou, o uso do modelo de avaliação do índice de resistência à insulina (HOMA-IR) (SMITH; MITTENDORFER; KLEIN, 2019).

Smith e colaboradores (2019) ao revisarem uma série de estudos sobre o tema, demonstraram que sujeitos obesos metabolicamente saudáveis e não saudáveis apresentam estilos de vida similares (dieta, nível de atividade física e sono) sugerindo a possibilidade de as diferenças metabólicas entre os grupos estarem presentes na adaptação biológica do tecido adiposo durante o ganho de massa corporal (SMITH; MITTENDORFER; KLEIN, 2019). Possivelmente, sujeitos MHO demonstrem maior capacidade adipogênica, se propondo que o processo de hiperplasia (a qual ocorre principalmente nos depósitos subcutâneos de TAB) possa contornar os efeitos metabólicos desfavoráveis da hipertrofia nos adipócitos brancos

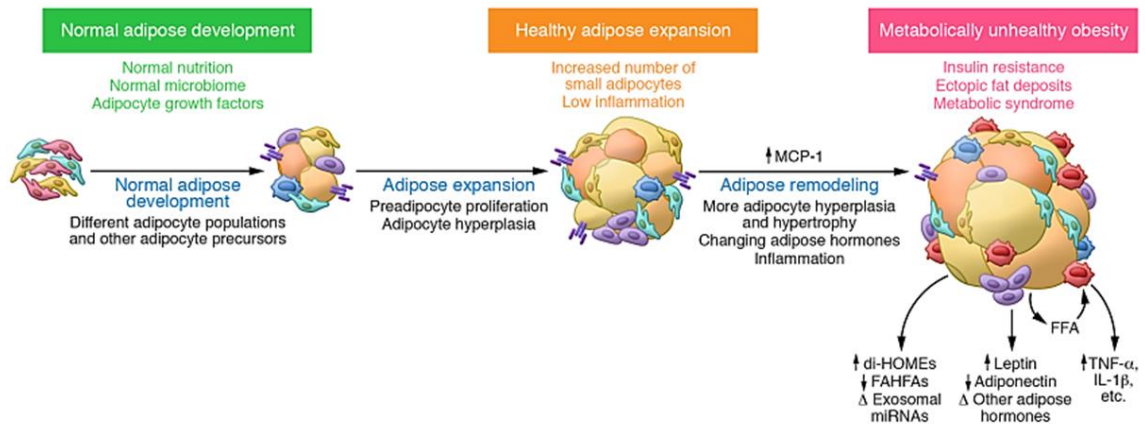


(especialmente na cavidade visceral) durante a instalação da obesidade (DENIS; OBIN, 2013; GHABEN; SCHERER, 2019; KLÖTING et al., 2009; YONESHIRO et al., 2013). Dessa forma, o tecido adiposo vive em uma balança entre uma expansão saudável e patológica (VETTOR; CONCI, 2019).

De forma geral, a expansão saudável dos adipócitos vem associada a preservação da sensibilidade a insulina, função mitocondrial, presença e recrutamento de adipócitos beges, adequado aporte de oxigênio e nutrientes pela rede de vasos que circunda os adipócitos (angiogênese) e manutenção de um perfil anti-inflamatório através da ação endócrina do TAB na produção e secreção de citocinas (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019).

Por sua vez, o remodelamento do tecido adiposo que se correlaciona a um perfil metabólico desfavorável apresenta inúmeras anormalidades em suas organelas, tais como redução no tamanho e quantidade de mitocôndrias, prejudicando a função mitocondrial e favorecendo a produção de EROs, estresse no retículo endoplasmático, hipertrofia do complexo de Golgi, formação de agregados de cálcio na superfície lipídica, infiltração de macrófagos M1, aumento da presença de cristais de colesterol, degeneração citoplasmática e extrusão de lipídios, aumento na deposição de colágeno na matriz extracelular e presença de estruturas *crown-like* ao redor dos adipócitos mortos (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019; CINTI, 2019; KAHN; WANG; LEE, 2019). Estas alterações causam um estresse nos adipócitos favorecendo o aparecimento de um ambiente de hipóxia, que em geral conduz para um aumento da fibrose e morte celular, e instalação de um *miliue* inflamatório local através da infiltração de células imunes e secreção de adipocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- $\alpha$  e IL-6 (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019; CINTI, 2019; KAHN; WANG; LEE, 2019). Uma vez mantido este estado inflamatório local, a secreção de tais citocinas a circulação sanguínea promove a adoção de um estado inflamatório subclínico de baixo grau não-infeccioso, um processo que engatilha inúmeros desarranjos metabólicos nos tecidos periféricos que prejudicam a flexibilidade metabólica, como a resistência à insulina na musculatura esquelética, redução da síntese de glicogênio hepático e muscular, e a deposição de gordura ectópica no fígado (CHOUCHANI; KAJIMURA, 2019; CINTI, 2019; KAHN; WANG; LEE, 2019). Os efeitos da obesidade sobre a remodelação do TAB são demonstrados na figura 3.

Figura 3 - Remodelamento saudável e patológico do TAB.



Da esquerda para a direita, a figura apresenta a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros, seguido do remodelamento saudável ou não-patológico devido a proliferação de pré-adipócitos e hiperplasia (adipogênese), e por fim, a expansão patológica visualizada na obesidade, com hipertrofia dos adipócitos brancos, inflamação e alterações em hormônios e adipocinas, que podem levar a resistência à insulina e a síndrome metabólica. Para mais detalhes vide o texto (tópico 1.6). Fonte: (KAHN; WANG; LEE, 2019).

1.7 Impacto da dieta hiperlipídica no TAM: o processo de branqueamento (whitening) e da termogênese facultativa induzida por dieta.

Durante a década de 70, o processo de termogênese gerado pela ativação do TAM foi vinculado à ineficiência metabólica e ao controle da massa corporal de roedores (CANNON; NEDERGAARD, 2004; ROTWELL; STOCK, 1979). Assim, estudos conduzidos em animais com obesidade genética mostraram uma redução no processo de termogênese adaptativa com a obesidade, supondo que o TAM desses animais estaria atrofiado (TRAYHURN; THURLBY; JAMES, 1977). Estes fatos sugeriram que a eficiência metabólica se perdia e conduzia ao aumento da massa e adiposidade corporal (HIMMS-HAGEN; DESAUTELS, 1978).

Esse conceito de que animais obesos seriam hipometabólicos permaneceu durante vários anos, e contribuiu para a adoção de mitos e presunções atrelados ao processo de obesidade, como por exemplo, de que a obesidade seria apenas ocasionada por razões comportamentais advindos da falta de controle da ingestão alimentar (CASAZZA et al., 2013).

O conceito de hipometabolismo e inativação do TAM em animais obesos virou um paradigma, a partir do momento que estudos realizados em animais *ob/ob* demonstraram um similar ou mesmo um aumento na capacidade termogênica dos animais obesos em relação aos controles, sugerindo que animais *ob/ob* não são hipometabólicos, e sim, se tornam obesos como resultado do consumo excessivo de calorias (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020)

Contudo, o sistema é complexo e existem evidências que demonstram o prejuízo na função do TAM com a obesidade e seu menor recrutamento em roedores e seres humanos obesos. De acordo com Kotzbeck e colaboradores (2018), o desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades depende de um balanço entre TAB e TAM (KOTZBECK et al., 2018). Essa hipótese se justifica através da análise de prévios estudos que demonstraram que em termoneutralidade (retirada do componente termogênico induzido pelo frio), a ausência de UCP1 faz com que camundongos mesmo alimentados com uma dieta padrão tornem-se obesos, ou demonstrem um agravamento da obesidade quando expostos a uma dieta hiperlipídica, sugerindo que, a expressão de UCP1 pelo TAM protege parcialmente contra a obesidade (FELDMANN et al., 2009). Trabalhos recentes deixaram claro o efeito da UCP1 no processo de obesidade em roedores (LUIJTEN et al., 2019; VON ESSEN et al., 2017).

Já em seres humanos, estudos têm descrito uma redução da massa e recrutamento do TAM em indivíduos obesos (CYPESS et al., 2009; SAITO et al., 2009; VAN MARKEN LICHTENBELT et al., 2009). Além disso, nesta população a suposta atrofia do TAM se correlaciona com o acúmulo de gordura visceral, envelhecimento e hiperglicemia (CYPESS et al., 2009; SAITO et al., 2009; VAN MARKEN LICHTENBELT et al., 2009; VIRTANEN et al., 2009). Estes dados apontam que a disfunção do TAM pode levar à obesidade e potencializar seus transtornos metabólicos (KOTZBECK et al., 2018).

A diminuição na atividade do TAM pode estar atrelada às alterações morfológicas ocasionadas pela obesidade. Trabalhos recentes demonstram que a exposição prolongada à dieta hiperlipídica combinada ao alojamento de roedores à termoneutralidade (ao redor de 30°C) altera a função do TAM que sofre um parcial declínio e, o leva a adquirir características fenotípicas semelhantes às visualizadas no TAB (KOTZBECK et al., 2018). A presença nos adipócitos marrons de uma morfologia similar aos adipócitos brancos é o resultado de uma combinação de vários fatores que incluem a infiltração de macrófagos, inibição dos processos de diferenciação e proliferação dos adipócitos marrons, apoptose, morte celular e formação de estruturas *crown-like* (OMRAN; CHRISTIAN, 2020). Esses processos levam ao aumento da deposição de lipídios nas gotículas multiloculares formando grandes gotículas uniloculares, a redução no conteúdo e disfunção mitocondrial, baixa expressão de genes termogênicos como UCP1, aumento do estresse oxidativo, estresse no retículo endoplasmático, redução da vascularidade, estado de hipóxia, e instalação de um perfil inflamatório (ALCALÁ et al., 2019; KOTZBECK et al., 2018; LUIJTEN et al., 2019; SAKAMOTO et al., 2016; VILLARROYA et al., 2018). Em conjunto, a presença destes processos é denominada de branqueamento (whitening), e está fortemente associada à disfunção do TAM (distúrbios na termoregulação)

tanto em modelos animais quanto em seres humanos (GONZÁLEZ-GARCÍA et al., 2019; LUIJTEN et al., 2019).

Sabendo-se que o consumo de dieta hiperlipídica e a obesidade estão vinculados à instalação de um estado inflamatório subclínico de baixo grau não-infeccioso, pode se levantar a hipótese que a presença deste mecanismo metabólico interfere no processo de termogênese (VILLARROYA et al., 2018). Em uma recente revisão, Villarroya e colaboradores (2018) apontam que diferente do TAB, o TAM resiste melhor ao desenvolvimento de um estado inflamatório local em resposta ao excesso de nutrientes provenientes da dieta (VILLARROYA et al., 2018). No entanto, a presença de um forte estado obesogênico pode induzir um ambiente pró-inflamatório de baixa intensidade nos adipócitos marrons, de maneira similar à ocorrida no TAB como mostrado anteriormente (tópico 1.6) (VILLARROYA et al., 2018; ALCALÁ et al., 2019).

Uma vez instalada, a inflamação altera a atividade termogênica do TAM, e consequentemente o gasto energético, através do aumento da resistência à insulina, e redução da captação de glicose e TG circulantes (VILLARROYA et al., 2018). Além disso, a ausência da citocina antiinflamatória IL-10, altera a função e morfologia mitocondrial e causa anormalidades na atividade termogênica do TAM, prejudicando assim a homeostase energética (DE-LIMA-JÚNIOR et al., 2019).

Em roedores, experimentos tem demonstrado que a exposição a curtos períodos de dieta hiperlipídica (3-4 dias) promove inflamação no hipotálamo (WAISE et al., 2015), resistência à insulina independente do aumento da adiposidade (CLEGG et al., 2011), inflamação no TAB (JI et al., 2012) e esteatose hepática (WIEDEMANN et al., 2013). Além disso, a breve exposição à dieta hiperlipídica demonstra ser capaz de iniciar uma transformação na morfologia do TAM (whitening), e aumentar a expressão de marcadores de macrófagos M1 nos adipócitos marrons (LUIJTEN et al., 2019).

Recentemente, Aldiss e colaboradores (2019) ao analisarem o impacto de 72h do consumo de dieta hiperlipídica no TAM interescapular e perivascular de ratos encontraram respostas divergentes entre os tecidos frente a este estímulo. No TAM interescapular, foram encontrados aumentos na expressão de genes associados ao processo de branqueamento (Lep, Retn e Adipoq), inflamação (TLR4), sinalização da insulina e metabolismo dos lipídios, enquanto no perivascular, genes que governam o inflamassoma foram sobreexpressos, indicando a presença de um ambiente apoptótico pró-inflamatório no tecido perivascular, após um breve período de exposição a dieta hiperlipídica (ALDISS et al., 2019).

Por outro lado, prévios estudos levantaram a possibilidade de que o consumo de dieta hiperlipídica e cafeteria promoverem um aumento na massa e na atividade termogênica dos adipócitos marrons em roedores, como uma tentativa de manutenção da massa corporal frente a presença de um balanço energético positivo (ROTHWELL; STOCK, 1979). Este processo é conhecido como termogênese facultativa induzida por dieta (LUIJTEN et al., 2019; ROTHWELL; STOCK, 1979).

#### 1.8 Exercício físico como fator associado à melhora da saúde corporal.

No intuito de conter o avanço da obesidade e da instalação de um processo inflamatório ocasionado pelo remodelamento patológico do TAB visceral, estratégias farmacológicas e a cirurgia metabólica (ou bariátrica) trouxeram à tona a capacidade de atenuar tais efeitos patológicos, atuando sobre a regulação do metabolismo e da ingestão alimentar, ao inibirem o apetite, aumentarem o gasto energético e reduzirem a quantidade de alimento ingerido por refeição (BRAY et al., 2016; NGUYEN; VARELA, 2017). Apesar de tais estratégias atenuarem o ganho de massa e reduzirem a adiposidade corporal de maneira drástica, ambas podem ocasionar efeitos colaterais no sistema cardiovascular e endócrino e trazer riscos à vida como consequência de uma intervenção operatória (BRAY et al., 2016; NGUYEN; VARELA, 2017).

Diante de tal contexto, ampliou-se o campo de pesquisa com foco nas estratégias convencionais e não-farmacológicas, especialmente no âmbito da nutrição e educação física, no sentido de buscar compreender os seus efeitos na terapêutica da obesidade e doenças correlacionadas (BRAY et al., 2016; PEDERSEN; SALTIN, 2015).

A partir deste universo de investigações, surgiram inúmeras pesquisas em torno dos efeitos do exercício físico em modular a massa corporal, a inflamação e o processo de termogênese em diferentes tecidos corporais (PINCKARD; BASKIN; STANFORD, 2019; VIDAL; STANFORD, 2020; WOODS et al., 2012). Em 2015, Pedersen e Saltin (2015) sumarizaram as evidências com base na prescrição do exercício físico como uma abordagem benéfica a saúde. Ao todo, os autores ilustram a possibilidade de a prescrição de exercício físico ser utilizada como tratamento para 26 diferentes doenças crônicas, tais como: doenças psiquiátricas (depressão e ansiedade), doenças neurológicas, doenças metabólicas (obesidade, diabetes tipo 2), doenças cardiovasculares e respiratórias, desordens musculoesqueléticas, e câncer (PEDERSEN; SALTIN, 2015). Os autores destacam que em determinadas condições, o exercício físico pode ser tão eficaz quanto o tratamento medicamentoso, e até mesmo mais efetivo ou atuar de forma sinérgica a outras intervenções (PEDERSEN; SALTIN, 2015).

Dentre as inúmeras modalidades de exercício físico, o exercício aeróbio de moderada intensidade se destaca no gerenciamento da massa corporal e no tratamento de inúmeras doenças através das suas ações na modulação da composição corporal (reduzindo a adiposidade e gordura abdominal); melhora do perfil lipídico; aumento da tolerância a glicose e sensibilidade a insulina; redução da pressão arterial sistólica e diastólica; diminuição da inflamação sistêmica ocasionada pelo excesso de adiposidade visceral; aumento da função cardiorrespiratória, entre outras (PEDERSEN; SALTIN, 2015).

### 1.9 Adaptações induzidas pelo exercício físico no TAB

Diversos estudos já demonstraram o papel do exercício físico em modular de maneira significativa o TAB (DEWAL; STANFORD, 2019; STANFORD; GOODYEAR, 2016; VIDAL; STANFORD, 2020; WEDELL-NEERGAARD et al., 2019). Além do aumento da atividade física estar relacionado ao controle da massa corporal, sabe-se que o exercício físico é capaz de atuar sobre mecanismos moleculares envolvidos em processos inflamatórios e metabólicos, promovendo a melhora de inúmeros parâmetros relacionados à mobilização de ácidos graxos, adiposidade visceral, atividade mitocondrial, e sensibilidade a insulina (GOLLISCH et al., 2009; STANFORD; GOODYEAR, 2016; STANFORD; MIDDELBEEK; GOODYEAR, 2015; VIDAL; STANFORD, 2020; WEDELL-NEERGAARD et al., 2019).

Estudos prévios têm demonstrado que o exercício físico é capaz de reduzir a massa adiposa (tamanho e conteúdo lipídico dos adipócitos) tanto em animais quanto em seres humanos (WEDELL-NEERGAARD et al., 2019; GOLLISCH et al., 2009). Nessa lógica, a redução do tecido adiposo visceral e subcutâneo abdominal contribuem para a diminuição da secreção de adipocinas inflamatórias e reverte as consequências negativas da lipotoxicidade (GLEESON et al., 2011; WEDELL-NEERGAARD et al., 2019). Sendo assim, pela adiposidade abdominal estar associada a um baixo condicionamento físico e indução de um processo inflamatório de baixo grau, indivíduos obesos submetidos ao treinamento físico demonstram redução nos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , aumento na produção de IL-6 (apresenta efeitos anti-inflamatórios quando secretada pelo músculo esquelético), e melhora da função cardiorrespiratória (BRAY et al., 2016; GLEESON et al., 2011).

De fato, Wedell-Neergaard e colaboradores (2019) levantaram a possibilidade de a redução da massa de tecido adiposo visceral através do exercício físico passar pelos efeitos lipolíticos da IL-6. Após 12 semanas de intervenção, os autores demonstraram que em indivíduos obesos com elevada adiposidade abdominal, a abolição dos efeitos da IL-6 através

do uso do anticorpo tocilizumabe (inibe de forma antagônica o receptor de IL-6), a eficácia do treinamento físico realizado em cicloergômetro em reduzir a massa de gordura visceral e os níveis de colesterol foram totalmente suprimidas, sugerindo que a participação da IL-6 é necessária para que o exercício físico reduza a massa de TAB visceral (WEDELL-NEERGAARD et al., 2019; YANG, 2019).

O efeito do exercício físico sobre a massa de TAB também tem sido mostrado em roedores alimentados com dieta hiperlipídica. Em resposta a 8 semanas de exercício físico aeróbio de natação, Rocha e colaboradores (2016) mostraram que houve uma diminuição nos níveis de adiposidade e na massa de TAB retroperitoneal e epididimal nos animais treinados em comparação aos animais obesos sedentários. Concomitantemente, foi observado uma resistência no ganho de massa corporal e melhora nas concentrações de colesterol total no grupo exercitado (ROCHA et al., 2016).

Além disso, Ziegler e colaboradores (2019) encontraram um aumento da infiltração de macrófagos tipo 2 no TAB visceral, redução na gordura e na área de adipócitos do depósito epididimal e aumento na expressão de UCP1 e IL-10, em camundongos obesos submetidos ao treinamento físico aeróbio (ZIEGLER et al., 2019). Esses dados certificam o papel do exercício físico no remodelamento do TAB para a melhora do perfil metabólico e inflamatório mesmo no envelhecimento.

Com isso, fica evidente que a modulação do TAB pelo exercício físico no fenótipo obeso pode induzir adaptações capazes de regular a homeostase da glicose e dos lipídios (STANFORD; GOODYEAR, 2016). Como recurso para a melhora desse quadro, os adipócitos brancos mobilizam ácidos graxos livres dos depósitos subcutâneo abdominal e visceral através da ativação adrenérgica ocasionada pelo exercício físico, e aumentam a expressão de várias proteínas metabólicas incluindo GLUT4, PGC1 $\alpha$  e Evol6, principalmente nos depósitos subcutâneos, ocasionando o aumento da sensibilidade a insulina e da taxa de reesterificação dos ácidos graxos (LEHNIG et al., 2019; MCKIE; WRIGHT, 2020; TOWNSEND; KNUTH; WRIGHT, 2017). Em jovens sedentários com sobrepeso foi observado um aumento na captação de glicose estimulada por insulina no TAB subcutâneo após 11 semanas de treinamento físico, ao mesmo tempo em que nos depósitos visceral e subcutâneo femoral os valores não se alteraram, apesar do TAB visceral apresentar maior captação de glicose em repouso e taxa lipolítica em comparação ao depósito subcutâneo (ROSENKILDE et al., 2012).

Interessantemente, o transplante de TAB subcutâneo de animais treinados para animais sedentários promove inúmeras alterações metabólicas positivas, tais como melhora da tolerância a glicose, aumento da sensibilidade a insulina, redução na concentração de colesterol

e melhora da flexibilidade metabólica em outros tecidos como músculo esquelético e TAM. Contudo, nenhuma diferença nesses parâmetros é encontrada nos animais que recebem TAB visceral tanto de cobaias sedentárias quanto treinadas, demonstrando às diferenças morfológicas e estruturais (fenótipo anti-inflamatório (subcutâneo) e pró-inflamatório (visceral) entre os depósitos de TAB (STANFORD et al., 2015).

Por fim, os resultados apontam para diferentes adaptações induzidas pelo exercício físico nos depósitos de TAB subcutâneo e visceral de roedores, incluindo o processo de escurecimento dos adipócitos branco subcutâneo inguinal, sobreexpressão de genes envolvidos na biossíntese e alongamento dos ácidos graxos no depósito mesentérico (visceral), aumento da atividade lipolítica e mitocondrial no depósito epididimal (visceral), e uma possível função endócrina do TAB na secreção de adipocinas que perfazem a comunicação entre os tecidos e contribuem para a melhora da homeostase metabólica com o exercício físico (LEHNIG et al., 2019; LEHNIG; STANFORD, 2018).

#### 1.10 Exercício físico: ativador ou inibidor do TAM?

As adaptações promovidas pelo exercício físico sobre inúmeros tecidos e órgãos do organismo humano, dentre eles, o TAB como exposto anteriormente (tópico 1.9), são amplamente investigadas pela literatura. No entanto, as adaptações sobre o TAM, apesar de serem analisadas desde da década de 80 do século XX, ainda demonstram resultados contraditórios sobre inúmeros parâmetros metabólicos, termogênicos, mitocondriais e endócrinos, como exposto por recentes publicações realizadas pelo grupo da professora Kristin Stanford de Ohio (DEWAL; STANFORD, 2019; LEHNIG et al., 2019; LEHNIG; STANFORD, 2018; PERES VALGAS DA SILVA et al., 2019; STANFORD et al., 2013, 2018; STANFORD; GOODYEAR, 2016; VIDAL; STANFORD, 2020; WHITE; DEWAL; STANFORD, 2019).

Para tentar compreender brevemente estas incongruências advindas dos efeitos agudos e crônicos do exercício físico sobre o TAM é necessário inicialmente contextualizar historicamente as publicações acerca de tal tema.

Sabe-se que em animais homeotérmicos a produção de calor pelo TAM é uma das principais maneiras de regulação da temperatura corporal durante a exposição ao frio. De maneira similar, o exercício físico produz calor e aumenta o gasto energético especialmente através da contração muscular e de ciclos fúteis termogênicos que são ativados na musculatura esquelética durante tal esforço (FULLER-JACKSON; HENRY, 2018). Assim, foi sugerido que



o treinamento físico atuaria como um estímulo antagonista na atividade termogênica do TAM, o tornando hipotativo e com maior deposição de lipídios em suas gotículas citoplasmáticas (CANNON; NEDERGAARD, 2004). A presunção de tal resposta do TAM frente ao treinamento físico veio especialmente de prévios trabalhos realizados em modelos animais, e publicados entre as décadas de 80 e 90.

Por exemplo, Hirata (1982) mostrou que 18 semanas de natação, durante 2 horas ao dia, com a temperatura da água a 36°C, não altera a massa interescapular do TAM de ratos Wistar alojados em temperatura ambiente (24°C), mas aumenta o fluxo sanguíneo para a região interescapular, indicando uma possível ativação dos adipócitos marrons (HIRATA, 1982). Segawa e colaboradores (1998) relataram nenhum efeito na atividade termogênica do TAM em ratos após 9 semanas de corrida em esteira ergométrica (SEGAWA et al., 1998). Similarmente, Leblanc e colaboradores (1982) ao investigarem os efeitos do exercício aeróbico de natação na termogênese de ratos Wistar machos e fêmeas alimentados com dieta padrão ou cafeteria, mostraram que o treinamento físico associado à dieta cafeteria reduziu a massa e o tamanho TAM, assim como a resposta termogênica dos animais independente do sexo (LEBLANC et al., 1982). Inversamente, Oh-Ishi e colaboradores (1996) relataram aumentos na massa e conteúdo de UCP1 no TAM de camundongos submetidos a exercício aeróbico de natação por 1h/dia, 5 dias/semanas, em temperatura a 35-36°C ao longo de 6 semanas (OH-ISHI et al., 1996).

Muito embora Cannon e Nedergaard (2004) possivelmente tenham se baseado em alguns desses prévios estudos discutidos anteriormente para conceituar uma possível inativação do TAM quando estimulado pelo esforço físico, alguns fatos que levaram a essa hipótese necessitam ser apresentados: (1) a maioria dos estudos conduzidos no século XX referente ao tema analisavam a atividade do TAM através apenas de mudanças morfológicas na sua massa e tamanho, com alguns poucos estudos analisando a atividade termogênica do tecido e dos animais; (2) em relação a parâmetros bioquímicos ou moleculares, parte dos estudos fizeram uso da quantificação do processo de termogênese através da ligação do GDP (guanosina difosfato) no TAM e a análise do fluxo sanguíneo para a região interescapular, métodos consagrados na década de 70 e 80, porém com menor significância nos dias atuais; (3) poucos estudos se basearam na análise do conteúdo proteico, da expressão gênica de UCP1, bem como, da atividade mitocondrial e metabólica do TAM; (4) também pode ser visualizado pouca variação no modelo experimental, com a maioria dos estudos sendo conduzidos em ratos Wistar; (5) há uma predominância na utilização do exercício aeróbico em esteira ergométrica, com menor quantidade de estudos sendo conduzidos na modalidade natação, ou mesmo através

da atividade espontânea dos animais; (6) manutenção de temperatura ambiente (entre 22-26°C) no local de alojamento dos animais, o que ocasiona uma ativação do TAM em razão da mesma encontrar-se abaixo da termoneutralidade para roedores, e por último, (7) poucos estudos investigaram a associação do exercício físico com a obesidade induzida por dieta hiperlipídica ou em animais geneticamente obesos (*ob/ob*) sobre a atividade termogênica do TAM. Todos esses fatores podem ter contribuído para a geração de viés nos resultados, levando a interpretações equivocadas quanto às adaptações induzidas pelo treinamento físico sobre a atividade termogênica e metabólica do TAM.

Atualmente, para se determinar os efeitos do treinamento físico no TAM de roedores, os estudos têm investigado a atividade mitocondrial, expressão gênica e proteica, capacidade de captação de glicose e de ácidos graxos circulantes, análises lipidômicas frente ao processo de termogênese adaptativa, e atividade endócrina do TAM após o exercício físico agudo ou crônico (DEWAL; STANFORD, 2019; LEHNIG et al., 2019; LEHNIG; STANFORD, 2018; MAY et al., 2017; PERES VALGAS DA SILVA et al., 2019). Mesmo com esses avanços na capacidade de mensurar a atividade termogênica e metabólica do TAM, os resultados ainda são inconclusivos.

Por exemplo, De Matteis e colaboradores (2013) ao exporem ratos Sprague-Dawley a 1 ou 6 semanas de exercício aeróbio em esteira por 1 hora ao dia, 5 dias na semana, na intensidade de 60% do consumo máximo de oxigênio (18m/min para esse grupo), em animais expostos a temperatura ambiente (22°C), encontraram um aumento no tônus simpático e na vascularização dos adipócitos marrons nos animais exercitados, sugerindo que o exercício físico possa influenciar a atividade termogênica do TAM através da ativação do sistema nervoso simpático (SNS), contudo, não foram observadas diferenças na expressão de mRNA da UCP1 nos adipócitos marrons (DE MATTEIS et al., 2013). Por sua vez, Ruiz e colaboradores (2015) propõem que o exercício físico agudo aumenta a lipólise no TAM e o processo de termogênese através da ativação da UCP1 (RUIZ et al., 2015).

Inversamente, Flouris e colaboradores (2017) em uma revisão sistematizada concluíram que o exercício físico não é um estímulo relevante para a expressão de UCP1 no TAM, exceto quando o mesmo é combinado com o consumo de dieta hiperlipídica, a exposição ao frio, ou quando os animais apresentam baixos níveis endógenos de TAM (FLOURIS et al., 2017). Mais recentemente, Lehnig e colaboradores (2019) mostraram que 3 semanas de corrida voluntária em camundongos aumenta a expressão de genes mitocondriais no TAM (Cidea, Cd36, Cs, UCP1), porém sem efeitos na expressão proteica de UCP1, acompanhados de redução na captação de glicose, lipólise, atividade mitocondrial e, no consumo de oxigênio basal da fração

do estroma vascular diferenciada do TAM dos animais treinados, dando suporte a prévia hipótese de hipoativação do TAM com o esforço físico (LEHNIG et al., 2019). Estes dados em conjunto demonstram uma redução da atividade mitocondrial e termogênica do TAM, porém, é possível que diferentes modalidades de exercício físico, duração, idade dos animais, temperatura de alojamento e também o consumo de dieta hiperlipídica possa induzir respostas distintas sobre estes parâmetros (LEHNIG et al., 2019; PERES VALGAS DA SILVA et al., 2019).

De fato, existe justificativa para que se proponha que a atividade muscular voluntária possa interferir diretamente ou indiretamente no tecido, levando o mesmo a uma hipo ou hiperatividade que não resulte exclusivamente no processo de termogênese. Isso se deve em razão do recrutamento do TAM ocorrer através do estímulo adrenérgico proveniente do SNS, sendo o exercício físico um potente estímulo para aumentar a descarga adrenérgica e a correspondente liberação de noradrenalina (CANNON, NEDERGAARD, 2004; DEWAL; STANFORD, 2019). Duração e intensidade do esforço são os dois principais fatores capazes de estimular o SNS e aumentar a concentração de catecolaminas circulantes durante o exercício físico (SILVERMAN; MAZZEO, 1996). Dessa forma, é plausível que a estimulação adrenérgica induzida pelo esforço físico possa ter efeitos agudos (ativação de UCP1, lipólise ou secreção endócrina) e/ou crônicos (transcrição gênica de UCP1, biogênese mitocondrial, hiperplasia do TAM, e browning no TAB) no TAM (SÁNCHEZ-DELGADO, 2018).

Além disso, o exercício físico também estimula a secreção de hormônios peptídeos, como peptídeos natriuréticos cardíacos, FNDC5, irisina, IL-6, e metabólitos, como lactato e ácido beta aminoisobutírico, que agem de forma independente ao SNS aumentando o processo de termogênese no TAM (PERES VALGAS DA SILVA et al., 2019; SANCHEZ-DELGADO et al., 2015).

Recentemente, tem sido demonstrado que assim como o frio, o exercício aeróbio de intensidade moderada apresenta a capacidade de aumentar a secreção e circulação de uma classe de lipídios denominados de “lipocinas” que podem atuar como moléculas sinalizantes e influenciar no metabolismo sistêmico (LEIRIA et al., 2019; LYNES et al., 2017; STANFORD et al., 2018). Um recente estudo publicado por Stanford e colaboradores (2018) demonstrou que tanto o exercício agudo quanto o crônico aumentam os níveis circulantes da lipocina 12,13-dihydroxy-9Z-octadecenoic acid (12,13-diHOME) que, além de servir como um biomarcador da ativação do TAM, também ativa a captação de lipídios nos adipócitos marrons e na musculatura esquelética, contribuindo para a redução dos níveis circulantes de TG (STANFORD et al., 2018). Em conjunto, estes resultados demonstram além da capacidade do

TAM em atuar como um órgão com ações autócrinas, parácrinas e endócrinas, a possibilidade de o exercício físico ser um potencial estímulo para a indução dessas respostas, contrapondo a hipótese de sua ação inibitória sobre os adipócitos marrons.

Além disso, também foi demonstrado que camundongos knockout para fator regulador de interferon 4 (IRF4) no TAM (BATI4KO), um padrão transcricional do co-fator PGC-1 $\alpha$  e regulador da biogênese mitocondrial e termogênese do TAM (KONG et al., 2014), exibiram uma redução na capacidade aeróbia em ambas as intensidades baixas e elevadas durante corrida em esteira, demonstrando ainda uma seletiva miopatia no músculo esquelético (KONG et al., 2018). O TAM interescapular destes animais intolerantes ao exercício eram caracterizados por sobre-regulação de genes que governam a fisiologia do músculo esquelético, incluindo a miostatina (KONG et al., 2018). Além disso, animais selvagens para IRF4 alojados em termoneutralidade (30°C), condição que reduz a expressão de IRF4 e a atividade basal do TAM, apresentaram redução na capacidade aeróbia de forma similar aos animais knockout alojados em temperatura ambiente (22°C) (KONG et al., 2018). Estes dados sugerem não apenas o possível cross-talk existente entre TAM e músculo esquelético, mas também a importância funcional do TAM na regulação da tolerância ao exercício (KONG et al., 2018).

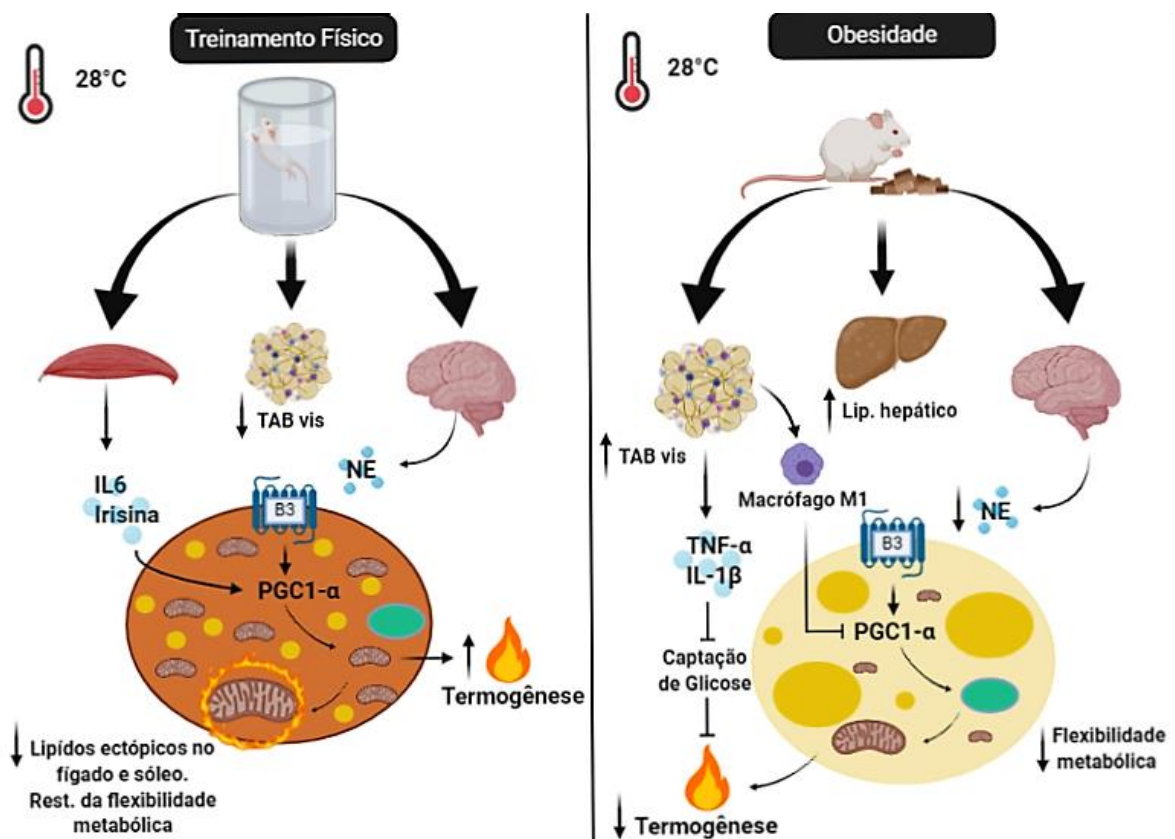
Em resumo, o conjunto de dados apresentados nesta revisão apontam para o fato de que, uma vez recrutado e ativado, o TAM contribui para a regulação da massa corporal e melhora da homeostase energética. Dessa forma, estímulos que levam a ativação e aumento da quantidade de TAM em animais e seres humanos são viáveis para serem utilizadas no combate a obesidade. No entanto, a maioria das abordagens utilizadas nos estudos são improváveis de serem empregadas em grande parte da população humana. A exposição por longos períodos de tempo a baixas temperaturas, ou mesmo o uso de fármacos agonistas seletivos ao receptor  $\beta$ 3-adrenérgico, são abordagens inviáveis por razões cotidianas e médicas, extrapolando assim os possíveis efeitos benéficos promovidos a saúde através da ativação do TAM (CYPESS et al., 2015; YONESHIO et al., 2013). Assim, considerando que o exercício físico não apenas previne o desenvolvimento de inúmeras doenças crônicas, como também, é uma excelente intervenção terapêutica para a obesidade, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e vários tipos de carcinomas (PEDERSEN; SALTIN, 2015) investigar os seus efeitos sobre o metabolismo e controle da massa corporal e adiposidade intraperitoneal, bem como sobre a ativação e recrutamento do TAM, pode abrir novas perspectivas para as adaptações promovidas pelo exercício físico no contexto da obesidade.

## 2 HIPÓTESES

- Efeito negativo da dieta hiperlipídica e obesidade sobre a flexibilidade metabólica tecidual, por exemplo, o aumento da deposição de lipídios no fígado e sóleo e redução da concentração de glicogênio, como consequência da elevação da adiposidade visceral. Além disso, aventamos a hipótese da dieta hiperlipídica aumentar a massa de TAM.
- Efeito positivo do treinamento físico na atenuação do ganho de massa corporal e na adiposidade visceral, bem como, na elevação da massa do TAM.
- O treinamento físico reduzira os efeitos indesejáveis da obesidade induzida por dieta hiperlipídica, ou seja, reduzira o conteúdo de lipídios no fígado e músculo esquelético, e elevara o estoque de glicogênio tecidual, restaurando assim, a flexibilidade metabólica.

A figura 4 ilustra as principais hipóteses deste trabalho.

Figura 4 - Hipóteses sobre os efeitos do treinamento físico e da obesidade.



Legenda na página a seguir.

No painel à direita é demonstrada a hipótese dos efeitos da obesidade induzida por dieta hiperlipídica na adiposidade visceral, capacidade termogênica e histológica do tecido adiposo marrom, e na flexibilidade metabólica hepática. No painel à esquerda é apresentada a hipótese que a prática do treinamento físico através da redução da adiposidade visceral e da capacidade de estimular o sistema nervoso simpático e a secreção de norepinefrina e moduladores termogênicos como a IL6 e a irisina irá estimular a termogênese no tecido adiposo marrom, diminuirá a deposição de lipídios ectópicos e restaurará a flexibilidade metabólica dos tecidos periféricos. Legenda: IL6 (interleucina 6); IL-1 $\beta$  (interleucina 1 beta); TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa); PGC-1 $\alpha$  (Coativador 1-alfa do receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo); NE (norepinefrina);  $\beta$ 3 (receptor adrenérgico beta 3); Rest (restauração). Fonte: elaborada pelo próprio autor.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos do treinamento físico na massa do TAM, na adiposidade visceral e, em parâmetros metabólicos de ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica.

#### 3.2 Objetivos Específicos

##### Etapa 1:

Na etapa 1, o objetivo foi confirmar o efeito do consumo de dieta hiperlipídica em induzir o processo de obesidade e avaliar o impacto do treinamento físico na adiposidade corporal e no metabolismo dos lipídios e carboidratos, analisando os seguintes parâmetros:

- Massa corporal;
- Massa dos depósitos de TAB visceral (epididimal, retroperitoneal e mesentérico);
- Área do adipócito epididimal (análise da hipertrofia);
- Índice de adiposidade;
- Massa do tecido hepático e músculo esquelético;
- Conteúdo de lipídeos na gordura epididimal, fígado e músculo sóleo;
- Conteúdo de glicogênio no músculo sóleo e fígado.

##### Etapa 2:

Na etapa 2 nossos objetivos foram avaliar se o treinamento físico é capaz de modular a massa do TAM e associar sua função com mudanças periféricas induzidas pelo fenótipo da obesidade. Para isso, os seguintes parâmetros foram analisados:

- Massa relativa do TAM;
- Razão entre TAM/TAB visceral;

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Considerações éticas

Este estudo foi realizado em modelo animal (ratos Wistar) e antes do início do experimento, os objetivos e intervenções a serem realizados durante a pesquisa foram submetidas a análise da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). O projeto foi avaliado e aprovado sob o protocolo nº 3161311018 (presente na seção de Anexo).

### 4.2 Animais

Neste estudo, foram utilizados 24 ratos Wistar (*rattus norvegicus*) machos, albinos, com 6 semanas de idade ( $250 \pm 5.05\text{g}$ ), obtidos do Biotério Central da UFSCar. O modelo Wistar foi utilizado em razão do aumento expressivo da massa e adiposidade corporal e por apresentar alterações em parâmetros metabólicos associados à síndrome metabólica quando alimentados com dieta hiperlipídica (DUARTE et al., 2006; ESTADELLA et al., 2004). Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício Físico (LNMEF) presente no Departamento de Educação Física e Motricidade Humana (DEFMH). No local, os animais foram alojados em caixas forradas com maravalha, com no máximo 3 animais por caixa, sob condições ambientais controladas: temperatura ambiente de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ; umidade relativa entre 44-55%; e ciclo claro-escuro (12h/12h), com a luz sendo acesa às 18h e desligada às 06h. Aos animais, foram ofertados ração e água *ad libitum* ao longo de todo o estudo.

Após atingir 10 semanas de idade (ratos adultos jovens), iniciou-se o processo de indução da obesidade, com os animais sendo divididos em: (i) grupo controle (n=12) alimentados com ração padrão para roedores (Presence®), sendo a composição calórica por porção de: 23% de proteína, 49% de carboidratos e 4% de gordura e; (ii) grupo obeso (n=12), onde a obesidade foi induzida através da troca da oferta de ração padrão por dieta hiperlipídica, sendo a composição calórica de 20% de proteína, 20% de gordura, 48% de carboidratos (ESTADELLA et al., 2004). Ambas as rações foram ofertadas durante 20 semanas. A eficácia da indução da obesidade pela dieta hiperlipídica foi comprovada através de incrementos na massa corporal, índice de adiposidade e adiposidade visceral. Durante todo o experimento, a massa corporal dos animais foi mensurada semanalmente em balança semi-analítica.

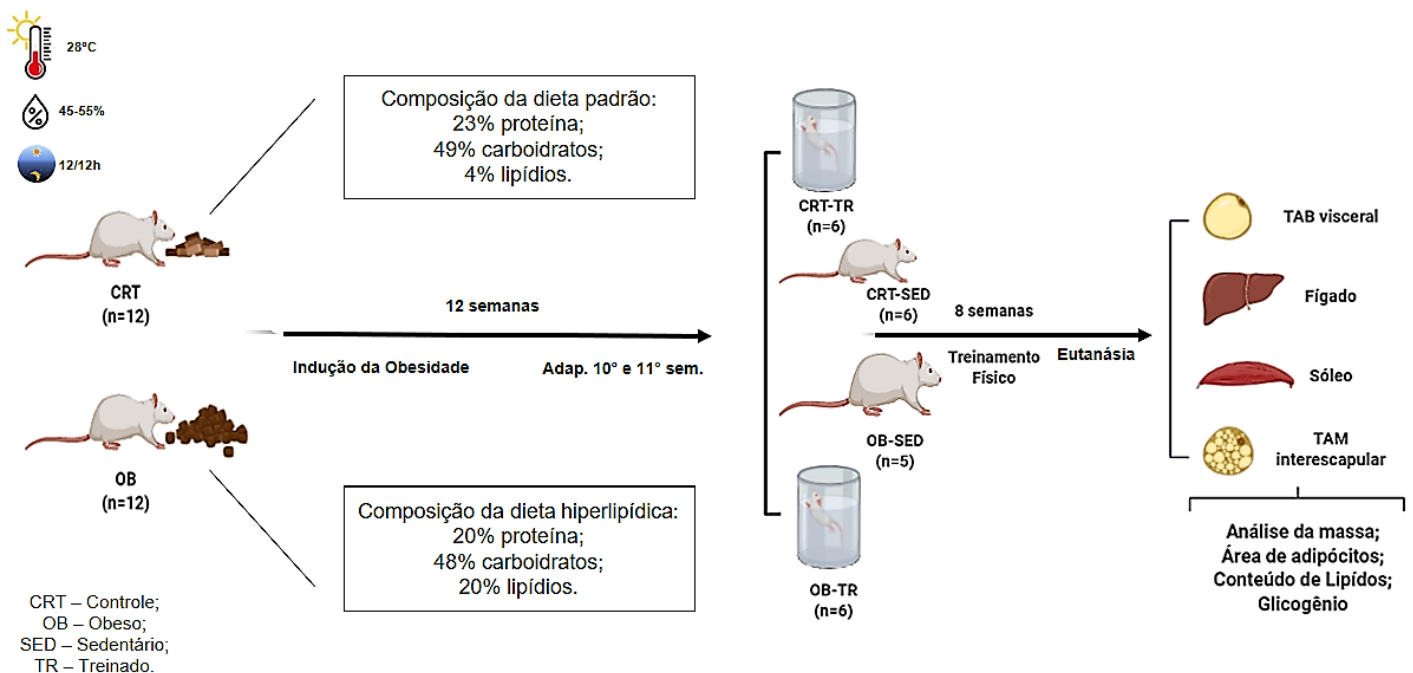


Após a décima segunda semana de indução da obesidade, os animais foram submetidos ao treinamento físico aeróbio de intensidade moderada na modalidade natação. Essa etapa do trabalho teve uma duração de 8 semanas (entre a décima segunda e vigésima semana de experimento). Sendo assim, os grupos (obeso e controle) foram subdivididos de forma randomizada nos seguintes grupos experimentais:

- Grupo controle treinado (CTR-TR, n=6)
- Grupo controle sedentário (CTR-SED, n=6)
- Grupo obeso treinado (OB-TR, n=6)
- Grupo obeso sedentário (OB-SED, n=5)

Durante o experimento, tivemos a perda de um animal do respectivo grupo obeso sedentário. Dessa forma, o estudo foi concluído com 23 animais. O resumo do desenho experimental e as subsequentes etapas do trabalho são apresentadas na figura 5.

Figura 5 - Desenho Experimental.



Legenda: controle (CTR); obeso (OB); obeso treinado (OB-TR); obeso sedentário (OB-SED); Tecido Adiposo Branco (TAB); Tecido Adiposo Marrom (TAM). Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 4.3 Protocolo de treinamento físico

Para os animais do grupo controle e obeso submetidos ao treinamento físico, foi realizado o protocolo de exercício físico aeróbio na modalidade natação. Antes do início do

período de treinamento (décima e décima primeira semana), os animais foram submetidos a seis dias de adaptação ao meio líquido, no mesmo período do dia em que foi realizado o treinamento físico. Este processo teve como objetivo reduzir o estresse ao animal perante o exercício físico realizado na água, e estabelecer a mecânica correta do padrão de nado sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento (CAMARGO FILHO et al., 2006). A capacidade de realizar o protocolo de treinamento físico foi analisada de acordo com o American Physiological Association: “a natação contínua envolve o movimento contínuo dos membros anteriores e posteriores do rato, mantendo o focinho acima da linha da água” (KREGEL et al., 2006). Confirmamos esse comportamento e a capacidade de cada animal em nadar antes de iniciar o programa de treinamento.

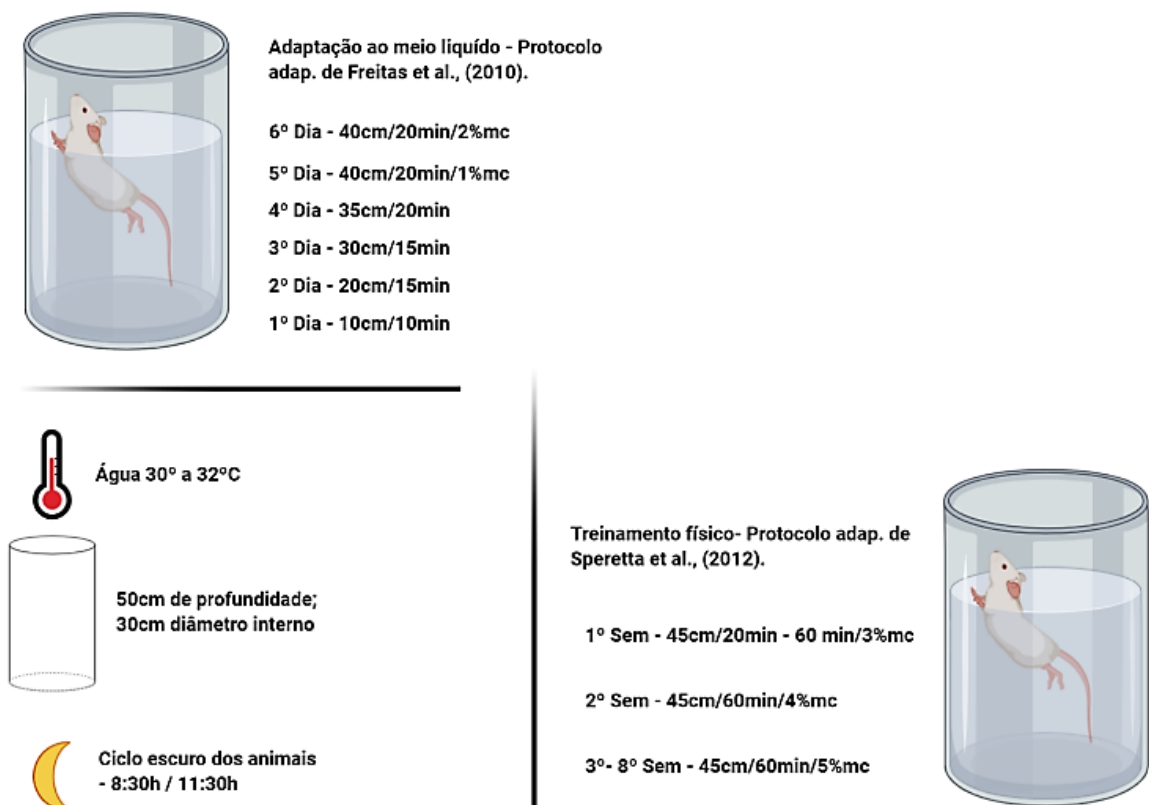
O período de adaptação ao meio líquido consistiu em manter os animais em contato com diferentes colunas de água sem ou com sobrecarga. No primeiro dia os animais foram colocados por 10 minutos em tanques individuais com a coluna de água na altura de 10cm (no nível inferior do tórax dos animais). No segundo dia o nível da água aumentou para 20cm, assim como, a duração para 15 minutos. No terceiro dia, o nível da água foi de 30cm (no nível superior do tórax), com a duração de 15 minutos. No quarto dia o nível da água foi de 35cm, com duração de 20 minutos. No quinto dia, a coluna de água se elevou para 40cm com a mesma duração da sessão anterior, porém, com a intensidade de 1% da massa corporal do animal. No sexto dia, com o mesmo nível de água, foi acrescentado 5 minutos na duração com a intensidade de 2% da massa corporal. Este protocolo de adaptação foi adaptado de Freitas e colaboradores (FREITAS et al., 2010). Após o período de adaptação, os animais descansaram por dois dias, antes do início do protocolo de treinamento físico.

O protocolo de treinamento físico consistiu em sessões de 60 minutos diárias, durante três dias na semana (segunda, quarta e sexta), ao longo de 8 semanas (entre a décima segunda e vigésima semana de experimento), com sobrecarga equivalente a 3% da massa corporal na primeira semana, aumentando gradualmente até que se atingisse 5% da massa corporal. Este protocolo pode ser considerado de intensidade moderada (limiar anaeróbio) (GOBATTO et al., 2001) e foi adaptado de Speretta e colaboradores (2012), que também utilizou ratos obesos treinados na modalidade natação (SPERETTA et al., 2012). A escolha do volume, duração da sessão e intensidade do esforço utilizada neste estudo foi baseada de acordo com a maioria das recomendações propostas por diferentes diretrizes e publicações que destacam que para o gerenciamento da obesidade (prevenção, ou modesta redução de peso) são recomendados volumes de 150 a 250min por semana de exercícios aeróbios de moderada intensidade

(DONNELLY et al., 2009; KEATING et al., 2017), com nosso protocolo se enquadrando nessas condições.

A primeira sessão de treinamento (dia 1) teve duração de 30 minutos com intensidade relativa a 3% da massa corporal. A segunda sessão de treinamento (dia 2) teve duração de 45 minutos, mantendo a intensidade da sessão anterior. A terceira sessão de treinamento (dia 3) teve duração de 60 minutos, com a manutenção da intensidade em 3% da massa corporal. A partir da quarta sessão (dia 4) a duração se manteve em 60 minutos, com intensidade de 4% da massa corporal. Na sequência, da sétima sessão em diante (dia 7), ambas as durações e intensidade se mantiveram em 60 minutos e 5% da massa corporal, respectivamente. Durante todo o período de treinamento, a coluna de água foi mantida em 45cm. A figura 6 ilustra os protocolos de adaptação e treinamento físico.

Figura 6 - Protocolos de adaptação e treinamento físico.



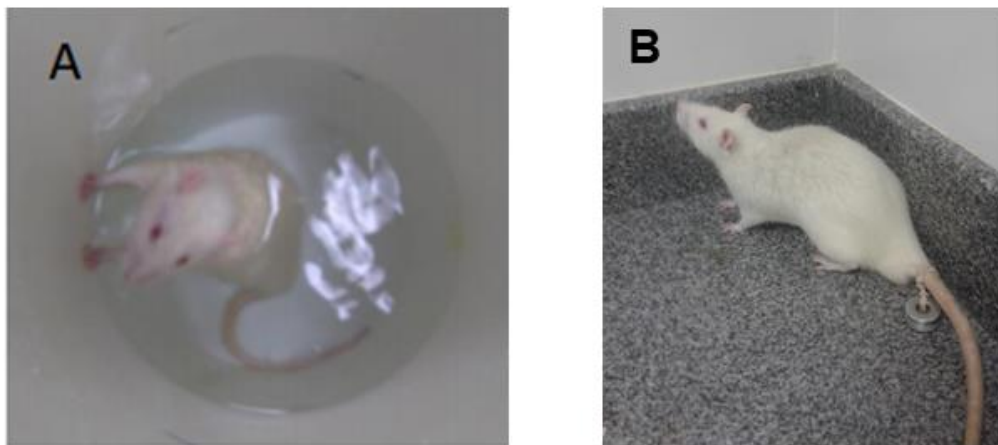
Legenda: %mc: percentual da massa corporal. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

A sobrecarga de trabalho imposta ao animal foi atada à sua cauda (figura 7, painel B), com avaliações para o ajuste semanal da carga sendo realizadas as segundas-feiras antes do início de uma nova semana de treinamento. O modelo de sobrecarga imposto neste trabalho não

utilizou da massa ajustada pela massa subaquática do animal. Após cada sessão de treinamento, os animais foram secos com panos limpos. Durante a sessão de treinamento, os animais sedentários permaneceram em suas respectivas caixas. Os animais foram eutanasiados 48h após a última sessão de treinamento físico.

Os períodos de adaptação e treinamento físico foram realizados em tanque cilíndrico, individual, com 50cm de profundidade e 30cm de diâmetro interno, contendo água morna, variando entre 30° a 32°C (figura 7, painel A). Além disso, ambos os procedimentos foram realizados durante o ciclo escuro dos animais, no período entre 08h e 11h, afim de reduzir o estresse e interferências no ciclo circadiano. A figura 7 ilustra os principais fatos relacionados a essa etapa do trabalho.

Figura 7 – Ilustração das principais etapas durante o processo de treinamento físico.



No painel A, são apresentados o tanque e o animal durante a adaptação ao meio líquido; painel B a sobrecarga atada a cauda do animal. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 4.4 Eutanásia

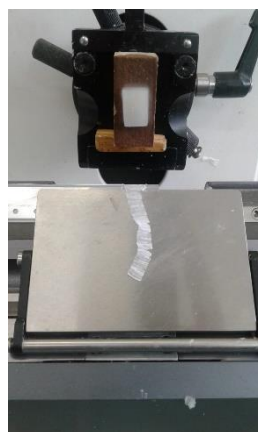
O processo de eutanásia ocorreu ao final da vigésima semana de experimento. Para os animais dos grupos treinados, foi respeitado um intervalo de 48 horas entre a última sessão de treinamento e a eutanásia, a fim de reduzir os efeitos agudos promovidos pelo exercício físico. Todos os animais utilizados neste estudo foram anestesiados via intraperitoneal com sobredosagem dos anestésicos injetáveis Quetamina (60mg/kg) e Xilazina (8mg/kg). Após a confirmação da falta de resposta a estímulos pressóricos na cauda, a eutanásia foi realizada a partir de uma exsanguinação por punção cardíaca. A fim de realizar o procedimento de forma tranquila e segura, a eutanásia humanitária aconteceu seguindo os princípios éticos da prática

de eutanásia expostos pela Resolução Normativa do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) n° 13 de 20/09/2013. Amostras de sangue e dos tecidos adiposos branco epididimal, retroperitoneal e mesentérico, tanto quanto do tecido adiposo marrom, fígado e músculo sóleo, foram isolados, pesados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , ou fixados em formalina tamponada 10% para posteriores análises.

#### 4.5 Análise Histológica.

Um pequeno fragmento de TAB epididimal foi alojado dentro de um cassete histológico, e fixado em formalina tamponada 10% por 48 horas. Após a fixação, os tecidos foram transferidos para um recipiente contendo álcool 70% até a realização das análises histológicas. Para a realização da histologia, os tecidos foram desidratados em banhos crescentes de álcool (80%, 95%, 100% I, 100% II, 100% III e 100% IV) por períodos de 30 minutos, diafinizados em banhos de Xilol (Xilol I, Xilol II e Xilol III) por 45 minutos, impregnados em 3 banhos de parafina a  $60^{\circ}\text{C}$  (parafina I, parafina II e parafina III) por 120 minutos, e por fim, inclusos em Parafina Histológica (Synth®) para os posteriores cortes. Após a inclusão, os fragmentos foram dispostos em pequenos blocos de madeira, e seccionados em  $7\mu\text{m}$  de espessura em micrótomo rotativo, e estendidos sobre banho maria em temperatura ao redor de  $40^{\circ}\text{C}$  para melhor aderência sobre as lâminas. A figura 8 ilustra os cortes do tecido em micrótomo rotativo.

Figura 8 - Micrótomo rotativo e os cortes do tecido adiposo epididimal emblocado na parafina.



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Após esses procedimentos, uma lâmina contendo 5 cortes por animal permaneceu em estufa, por 24 horas na temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  para a completa fixação dos cortes sobre a lâmina e, posteriormente, passaram por processo de desparafinização em xilol, hidratação em

concentrações crescentes de álcoois, e por fim, reidratação em água destilada, sendo os cortes na sequência corados com hematoxilina e eosina (HE). Após a coloração, os cortes foram desidratados em álcool e diafinizados em xilol, para na sequência, serem montadas as lamínulas utilizando Entellan (Entellan®, Merck).

As lâminas coradas com HE foram digitalizadas em microscópio óptico Axiolab (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) acoplado com uma câmera AxioCamHRc (Carl Zeiss). Neste estudo, digitalizamos aleatoriamente 5 imagens para cada animal na objetiva de 20x. Posteriormente, foi utilizado o software ImageJ para a quantificação da área ( $\mu\text{m}^2$ ) dos adipócitos como descrito por Parlee e colaboradores (2012).

#### 4.6 Determinação do conteúdo de lipídios totais.

Para determinação e quantificação do conteúdo de lipídios totais no fígado, músculo sóleo e na gordura epididimal, foi utilizado o método proposto por Folch e colaboradores (FOLCH; LEES; SLOANE STANLEY, 1957). Para este método foram utilizados 1g de tecido hepático, 0,25g de tecido muscular e 1g de TAB epididimal. Inicialmente, os tecidos foram homogeneizados com 4ml de solução de Folch (clorofórmio:metanol – 2:1). Em seguida, o material foi transferido para um tubo de extração de lipídios e o volume completado com solução de Folch até atingir 10ml. Após 24h de extração, o material foi filtrado utilizando papel filtro e, a uma alíquota de 8ml do filtrado foi adicionado 0,9g de cloreto de sódio dissolvido em 100ml de água deionizada, para a remoção de traços de água. Na sequência, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 5 minutos, para a separação da fase clorofórmica (inferior) e aquosa (superior) (figura 9, painel A).

Uma alíquota de 3ml da fase clorofórmica foi transferida para tubos previamente pesados para evaporação em temperatura ambiente. A quantidade de gordura foi obtida pelo método gravimétrico (figura 9, painel B). O cálculo foi ajustado de acordo com a alíquota de tecido utilizado e a quantidade de lipídios obtidos na fase clorofórmica e expressos como g.g. de tecido<sup>-1</sup> como exposto por Pereira e colaboradores (2017). A figura 9 apresenta os dois principais passos da extração de lipídios totais dos tecidos analisados.

Figura 9 – Etapas de extração e determinação do conteúdo de lipídios totais.



No painel A é apresentada a extração de lipídios teciduais, no painel B o método gravimétrico, com os lipídios totais presentes no fundo do frasco após a evaporação do clorofórmio. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 4.7 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular

O conteúdo de glicogênio nos tecidos periféricos (músculo e fígado) foi quantificado após a digestão alcalina de 250mg de tecido muscular (sóleo) e 500mg de tecido hepático em proporções de 1 e 2ml de hidróxido de potássio (KOH) 30%, respectivamente. Os referentes tecidos permaneceram em banho maria fervente por pelo menos 30 minutos. Após a digestão (figura 10, painel A), concentrações de sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e álcool bidestilado 70% foram adicionados, e as amostras retornaram ao banho maria fervente para a ebulição do álcool. Após a floculação, a solução foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos, sendo o sobrenadante descartado. O precipitado foi ressuspenso com água deionizada quente e uma alíquota de álcool bidestilado 70% foi novamente adicionado, ebulido e centrifugado conforme descrito anteriormente. O sobrenadante foi novamente descartado, e o precipitado ressuspenso com água deionizada quente. A uma alíquota de 10 $\mu\text{l}$  para fígado e 200 $\mu\text{l}$  para músculo foi adicionada água deionizada para correção do volume final em 1ml. Nessa mesma alíquota foram adicionados 10 $\mu\text{l}$  de fenol seguido da adição de 2ml de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram levados ao banho maria fervente por 15 minutos e a leitura das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 490nm. A concentração de glicosil-glicose foi estimada contra soluções padrões de glicose com concentrações conhecidas (DUBOIS et al., 1956). A figura 8 apresenta as principais imagens retiradas durante a realização desta etapa do trabalho.

Figura 10 - Determinação do glicogênio hepático e muscular.



No painel A é apresentando a imagem do tecido (fígado) após a digestão alcalina com KOH; no painel B a imagem após a adição de álcool bidestilado e a sua ebulição em banho-maria fervente. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 4.8 Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. O  $n$  utilizado em algumas análises são variáveis ( $n=4$  a  $n=6$  ratos/grupo), por isso são descritos junto de cada resultado. A normalidade dos dados foi analisada através do teste de Shapiro Wilk. Para a determinação de diferenças entre os grupos e análise dos fatores (obesidade e treinamento físico), foram realizadas comparações múltiplas através da análise de variância (ANOVA Two-way), seguido do teste post-hoc de Tukey quando necessário. A correlação dos dados foi realizada a partir do teste de Pearson. A significância estatística adotada foi de  $p<0,05$ . Todos os dados foram analisados através do programa GraphPad Prism® (versão 7.02).



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PARTE 1: EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NA ADIPOSIDADE VISCERAL, CONTEÚDO DE LIPÍDIOS E GLICOGÊNIO TECIDUAL

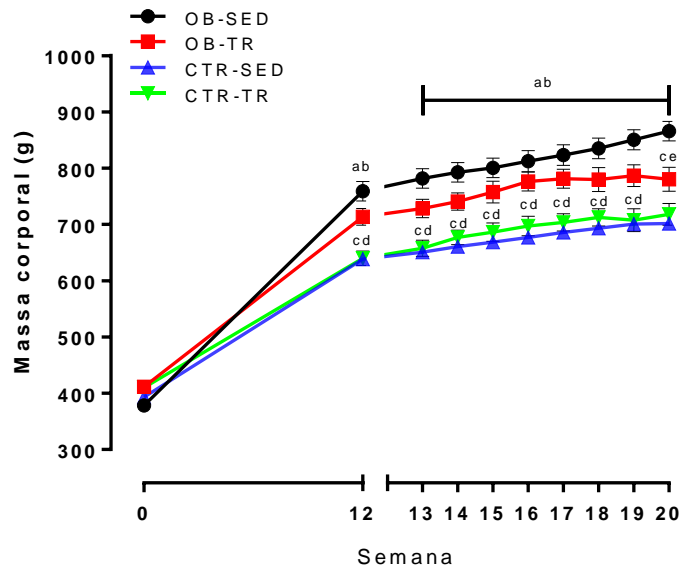
#### 5.1.1 Caracterização temporal da massa corporal

Visando induzir o processo de obesidade sobre a amostra estudada, ratos Wistar foram alimentados com dieta padrão para roedores ou dieta hiperlipídica conforme a metodologia descrita anteriormente (tópico 4.2). O uso de dieta hiperlipídica em modelos experimentais, tem se estabelecido como uma importante estratégia para a indução da obesidade.

Como observado na Tabela 1, página 56, os valores da massa corporal no início do experimento (semana 0) não difere entre os grupos ( $p>0,05$ ), demonstrando a homogeneidade e similaridade da amostra na etapa inicial do experimento. Como esperado, após doze semanas de indução da obesidade, os animais pertencentes aos grupos obesos que receberam dieta hiperlipídica apresentaram massa corporal aproximadamente 15% maior em relação aos grupos controles alimentados com dieta padrão ( $p<0,05$ ).

Após a indução da obesidade, o próximo passo do estudo foi observar os efeitos do treinamento físico sobre a massa corporal. Apesar do aumento da massa corporal ocorrer em todos os grupos, ao final da 8ª semana de treinamento físico (semana 20 do experimento), o grupo OB-TR apresentou um valor reduzido na massa corporal final quando comparado ao grupo OB-SED (aproximadamente 11%; Figura 11), ( $p=0,0159$ ). As diferenças observadas na semana 12 entre o grupo OB-SED e grupos controles se mantiveram ao longo do período de treinamento ( $p<0,05$ ). Respectivas alterações também foram observadas entre o grupo OB-TR e grupos controles ( $p<0,05$ ), exceto para a semana 20 do experimento, momento em que diferenças significativas entre o grupo OB-TR e o grupo CTR-TR não foram observadas ( $p>0,05$ ). Não foram encontradas diferenças na massa corporal entre os animais controles ( $p>0,05$ ). A caracterização da massa corporal é apresentada na Figura 11.

Figura 11 - Evolução da massa corporal.



Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR) ( $n=5-6$ ). <sup>a</sup> $p<0,05$ , comparado a CTR-SED; <sup>b</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>c</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-SED; <sup>d</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>e</sup> $p<0,05$  comparado a OB+SED. g: gramas Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Ao calcular o efeito do treinamento físico (entre a semana 12 e 20) no ganho de massa corporal (valor inicial – valor final), não encontramos diferenças significativas entre os grupos ( $p>0,05$ ). Contudo, vale destacar a redução no grupo OB-TR em relação ao grupo OB-SED em aproximadamente 60% no ganho de massa corporal, indicando uma resistência ao ganho de massa corporal nos animais OB-TR.

Tabela 1. Massa corporal e ganho de massa de ratos obesos e controles no início do experimento (semana 0), antes e após o treinamento físico.

	Massa corporal (g)			
	Semana 0	Semana 12	Semana 20	Ganho de Massa (g) (12° e 20° sem)
OB-TR	411,33 $\pm$ 9,23	713,50 $\pm$ 14,64 <sup>cd</sup>	780,16 $\pm$ 21,33 <sup>ce</sup>	66,82 $\pm$ 20,33
OB-SED	378,60 $\pm$ 10,49	759,20 $\pm$ 17,31 <sup>ab</sup>	865,60 $\pm$ 17,69 <sup>ab</sup>	106,40 $\pm$ 2,71
CTR-TR	410,00 $\pm$ 8,00	639,83 $\pm$ 12,82	717,83 $\pm$ 19,17	77,98 $\pm$ 9,18
CTR-SED	393,16 $\pm$ 10,91	638,00 $\pm$ 11,46	701,60 $\pm$ 9,27	63,16 $\pm$ 12,87

Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo, dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p<0,05$ ,

comparado a CTR-SED; <sup>b</sup>p<0,05 comparado a CTR-TR; <sup>c</sup>p<0,05 comparado a CTR-SED; <sup>d</sup>p<0,05 comparado a CTR-TR; <sup>e</sup>p<0,05 comparado a OB-SED.g: gramas Fonte: elaborada pelo próprio autor.

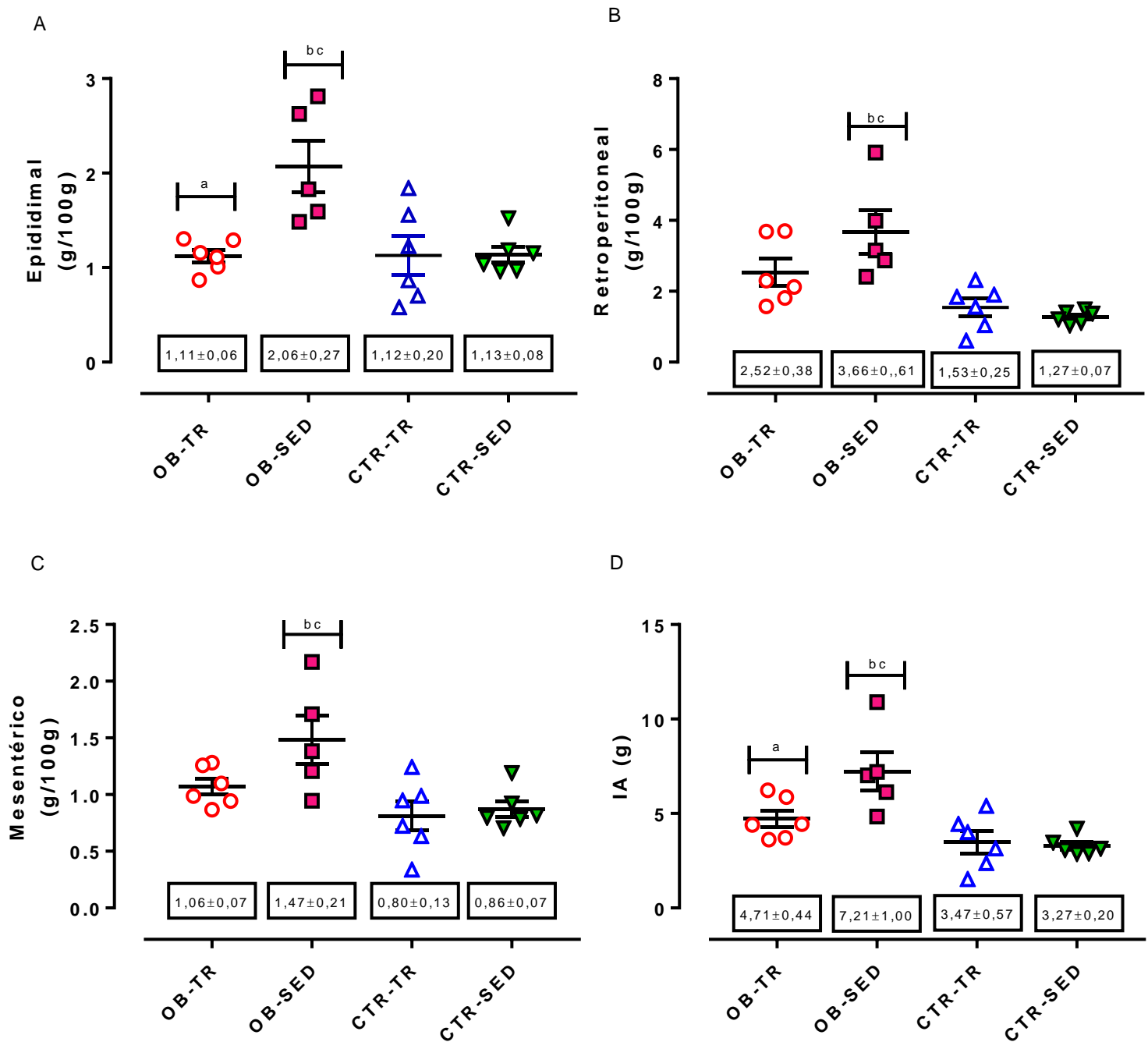
### 5.1.2 Massa relativa da gordura intraperitoneal, sóleo e fígado.

Após o período de treinamento físico, os animais foram eutanasiados e a massa dos depósitos de TAB intraperitoneal (epididimal, retroperitoneal, mesentérico), sóleo e fígado foram pesados e relativizados a massa corporal total dos animais (massa do tecido x 100 / massa corporal).

A ingestão da dieta hiperlipídica sem o treinamento físico (OB-SED) aumentou a deposição de gordura epididimal (Figura 12, painel A, p<0,05), retroperitoneal (Figura 12, painel B, p<0,05) e mesentérico (Figura 12, painel C, p<0,05), comparado aos grupos controles (p<0,05). Estes efeitos foram prevenidos nos animais obesos treinados (OB-TR), que demonstraram uma diminuição significativa na quantidade de gordura epididimal (aproximadamente 86%) quando comparado ao grupo OB-SED, (p=0,0053) (Figura 12A). Entretanto, apesar do grupo OB-TR apresentar valores reduzidos na massa da gordura retroperitoneal (45%) e mesentérico (39%) em relação ao grupo OB-SED, alterações significativas não foram encontradas (p>0,05) (Figura 12B e 9C). O treinamento físico também não promoveu mudanças nos depósitos de TAB visceral entre os grupos controles (p>0,05).

Posteriormente, a razão entre os depósitos de gordura intraperitoneal e a massa corporal dos animais foi calculada, dando origem ao índice de adiposidade (gordura epididimal + retroperitoneal + mesentérica / massa corporal), um indicador do estoque excessivo de tecido adiposo no corpo do animal (TAYLOR; PHILLIPS, 1996). Como esperado, o índice de adiposidade foi maior nos animais OB-SED em relação aos grupos controles (p>0,05). O treinamento físico reduziu o índice de adiposidade do grupo OB-TR (aproximadamente 53%) em comparação ao grupo OB-SED (p=0,0497) (Figura 12D). Não foram observadas diferenças entre os animais controles (p>0,05).

Figura 12 - Análise da gordura intraperitoneal e do índice de adiposidade (IA).

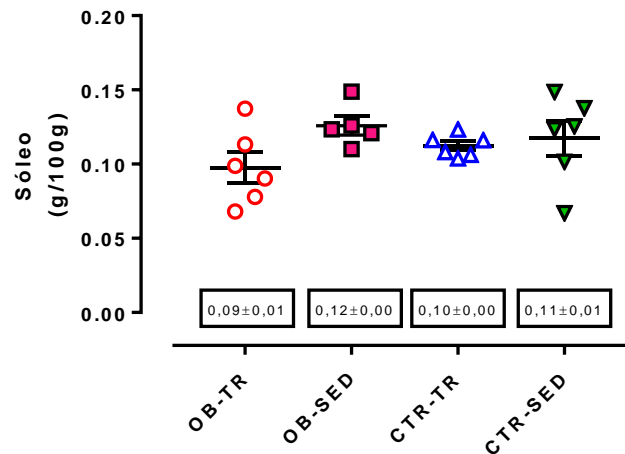


Legenda: gordura epididimal (A), gordura retroperitoneal (B), gordura mesentérica (C), índice de adiposidade (IA) (D). Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-SED; <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>c</sup> $p < 0,05$  comparado a CTR-SED. g: gramas. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Apesar de prévios estudos demonstrarem que o treinamento físico e a obesidade promoverem importantes alterações no músculo esquelético, entre elas, o aumento da massa

muscular (hipertrofia) (SPERETTA et al., 2012), não houve efeito da dieta, treinamento físico e a interação entre os dois fatores na massa do músculo sóleo, ( $p>0,05$ ) (Figura 13).

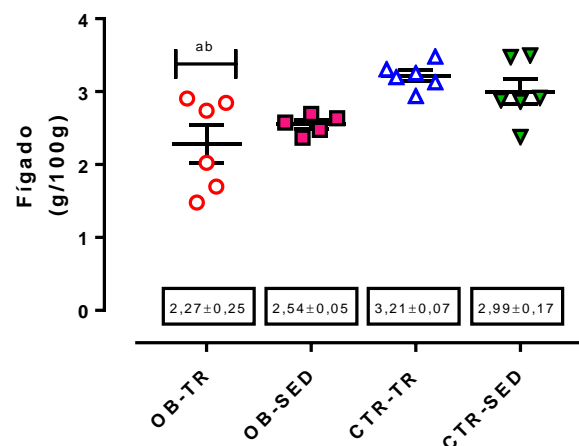
Figura 13 - Massa relativa do músculo sóleo



Os dados representam a média e  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo, dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). Não houve diferença significativa entre os grupos,  $p>0,05$ . g: gramas. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Quanto ao fígado, os resultados apontam uma redução da massa hepática com o consumo da dieta hiperlipídica, e a potencialização deste quadro quando associado ao treinamento físico (grupo OB-TR), sendo encontrado diferenças entre o grupo OB-TR em relação aos grupos controles, ( $p<0,05$ ) (Figura 14). A massa de tecido hepático não foi modificada pelo treinamento físico entre os ratos controles ( $p>0,05$ ).

Figura 14 - Massa relativa do fígado.

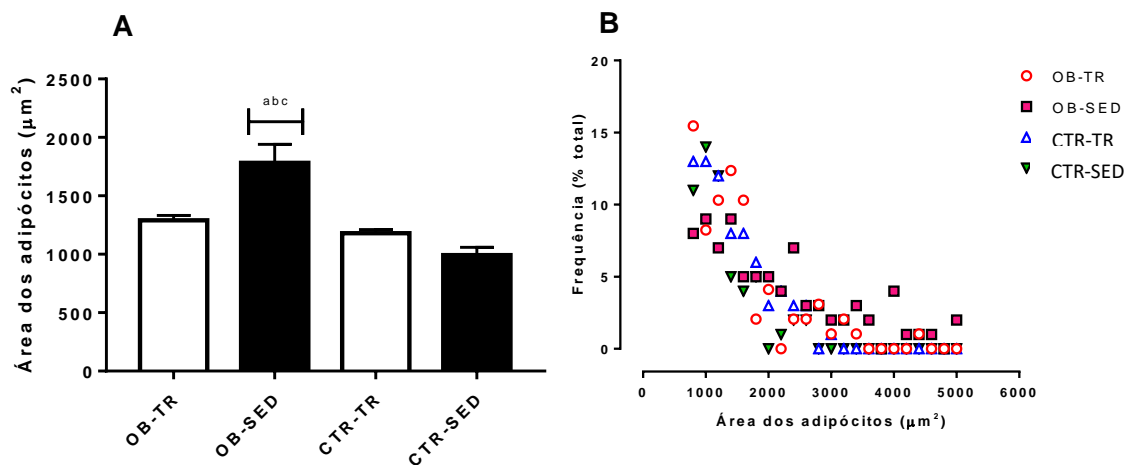


Os dados representam a média e  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo, dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p<0,05$ , comparado a CTR-TR; <sup>b</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-SED. g: gramas. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

### 5.1.3 Morfologia do TAB epididimal

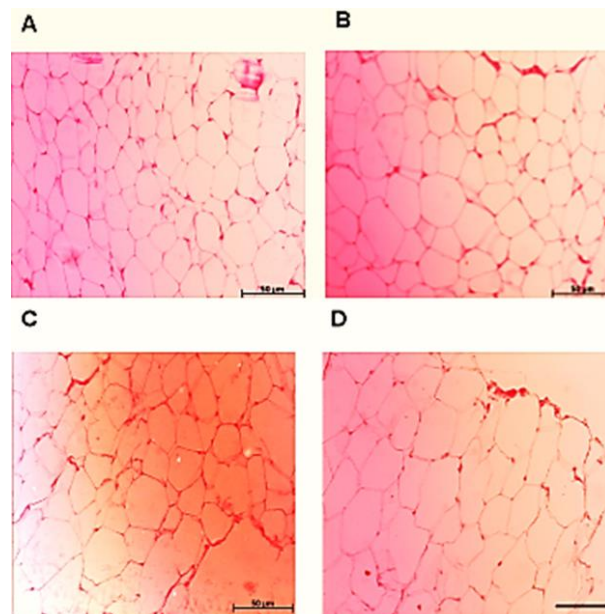
As figuras 15 (painel A) e 16 demonstra que nos ratos OB-SED houve um aumento na área (hipertrofia) dos adipócitos em comparação aos animais controles ( $p<0,05$ ). Além disso, o treinamento físico preveniu esse aumento nos animais OB-TR (OB-TR versus OB-SED) ( $p=0,0028$ ). Não houve diferença no tamanho dos adipócitos entre os animais controles (CTR-TR versus CTR-SED) ( $p>0,05$ ). A área dos adipócitos também foi analisada através da sua frequência de distribuição de acordo com o seu tamanho, como apresentado na figura 15, painel B. O gráfico aponta para uma maior frequência de adipócitos com menores áreas nos animais controles e OB-TR, e áreas maiores nos animais OB-SED, corroborando com os resultados encontrados na figura 15, painel A. A figura 16 apresenta as imagens dos adipócitos epididimal.

Figura 15 – Morfologia do TAB epididimal



Legenda: área de adipócitos (A), frequência de distribuição (B). Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=3-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p<0,05$  comparado a OB-TR; <sup>b</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>c</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-SED. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Figura 16 – Fotomicrografia representativa dos adipócitos epididimal coradas com HE.



Legenda: controle natação (A), controle sedentário (B), obeso treinado (C) e, obeso sedentário (D). As imagens foram tiradas com ampliação de 20x, com a barra de escala preta representando 50µm. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 5.1.4 Lipídios totais no fígado, músculo sóleo e gordura epididimal

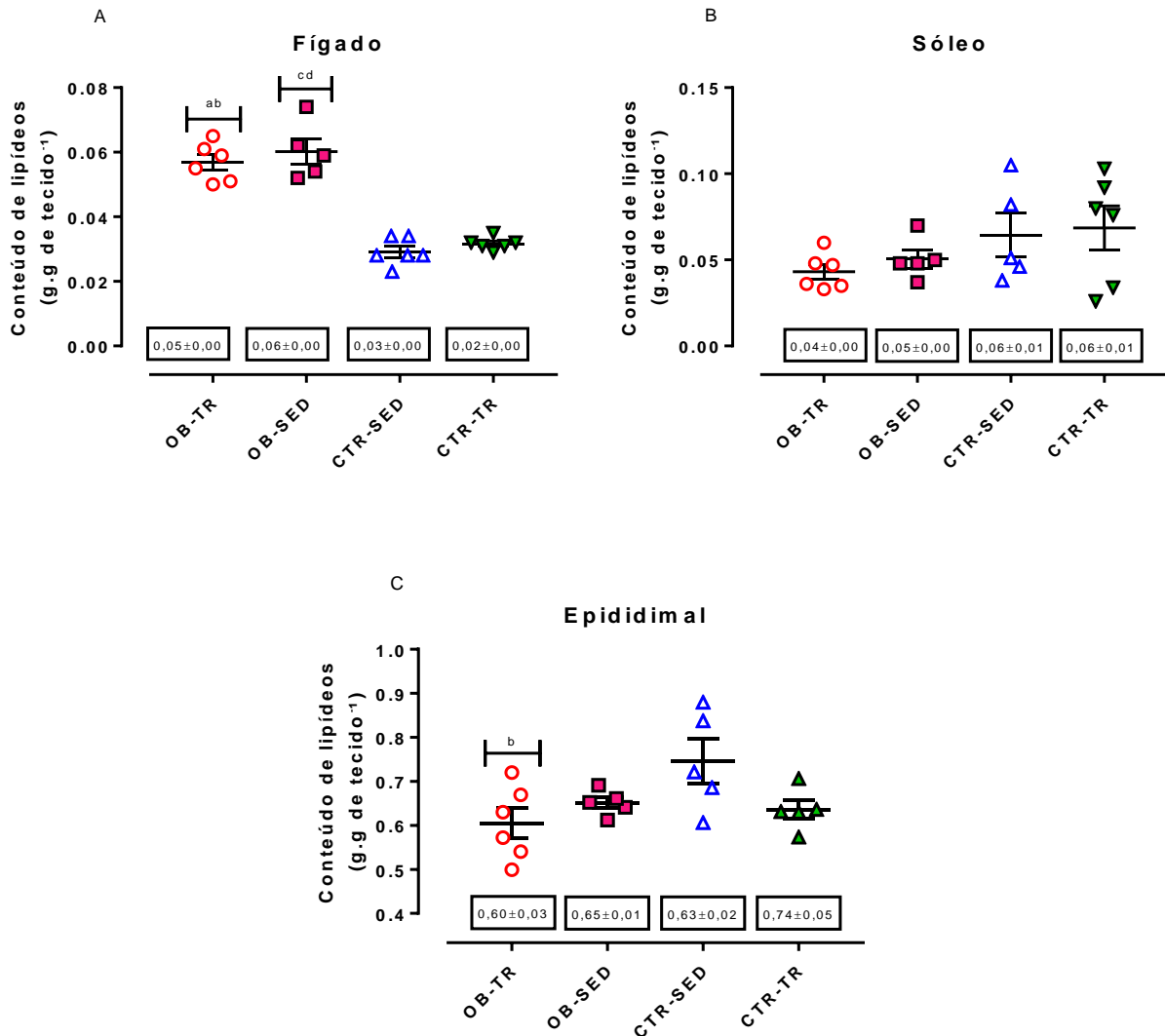
Devido as principais alterações na gordura intraperitoneal frente ao treinamento físico ocorrerem no depósito epididimal do grupo obeso e, sendo o fígado e músculo sóleo importantes reguladores do metabolismo dos lipídios, a próxima análise envolvendo o conteúdo de lipídios totais foi realizada apenas nestes tecidos. Sendo assim, os tecidos foram homogeneizados com a solução de Folch descrito anteriormente (tópico 4.6) e o conteúdo de lipídios totais foi determinado pelo método gravimétrico (FOLCH; LEES; SLOANE STANLEY, 1957).

A figura 17A mostra os efeitos da dieta hiperlipídica no conteúdo de lipídios hepáticos, com esta variável demonstrando aumentos significativos nos animais obesos (150% para OB-TR e 100% para OB-SED), respectivamente quando comparado aos seus respectivos controles, ( $p < 0,05$ ). O treinamento físico não reverteu o aumento do conteúdo de lipídios nos animais obesos ( $p > 0,05$ ).

Quanto ao musculo sóleo, alterações significativas entre os grupos não foram observadas para nenhuma das comparações ( $p > 0,05$ ) (Figura 17B). Em relação a gordura epididimal, é possível visualizar uma redução no acúmulo de lipídios neste depósito de gordura

nos animais OB-TR em relação ao grupo CTR-SED, ( $p=0,0313$ ) (Figura 17C). Posteriores alterações não foram observadas ( $p>0,05$ ).

Figura 17 - Conteúdo de lipídios no fígado e sóleo.



Legenda: fígado (A), músculo sóleo (B), gordura epididimal (C). Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>b</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-SED; <sup>c</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-SED; <sup>d</sup> $p<0,05$  comparado a CTR-TR. g.g: grama por grama. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

#### 5.1.4 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular

Algumas das principais alterações metabólicas induzidas pelo consumo de dieta hiperlipídica e treinamento físico passam por mudanças no metabolismo dos carboidratos,

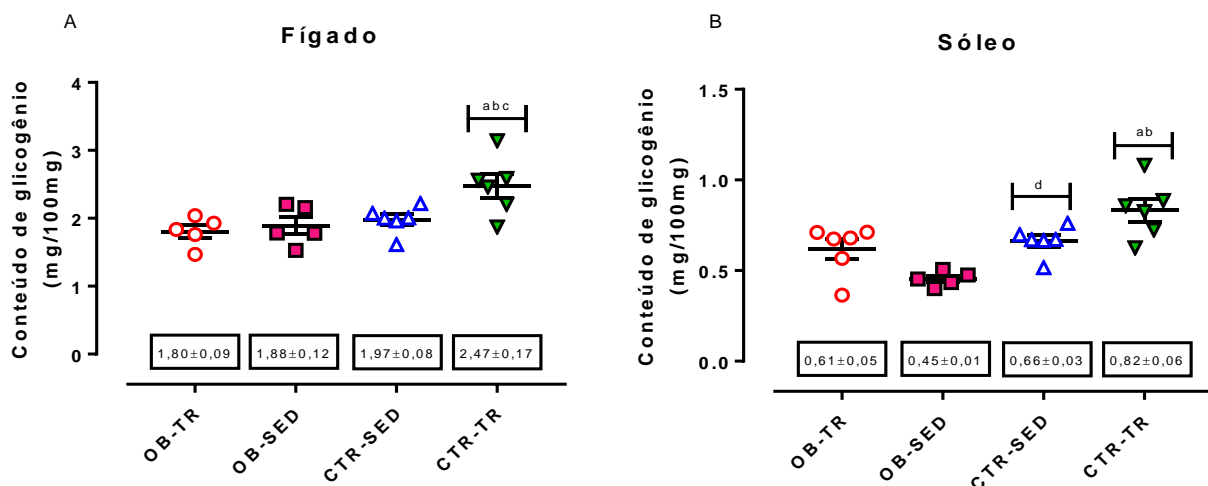


sendo uma das mais notadas os presentes na via de regulação da ressíntese e degradação do glicogênio muscular e hepático (MANABE et al., 2013; RAVAGNANI et al., 2012).

O treinamento físico associado a ração padrão resultou em aumento no conteúdo de glicogênio no fígado dos animais controles (aproximadamente 37% e 31%), respectivamente quando comparado ao grupo OB-TR e OB-SED, ( $p < 0,05$ ) (figura 18, painel A). Alterações entre os grupos controles e entre os grupos obesos não foram visualizadas ( $p > 0,05$ ).

A figura 18, painel B mostra o efeito da dieta hiperlipídica no conteúdo de glicogênio do músculo sóleo. Os valores de glicogênio muscular apresentam-se significativamente reduzidos nos animais OB-SED (aproximadamente 47%), quando comparado ao seu respectivo grupo controle (CTR-SED) ( $p < 0,05$ ). O treinamento físico nos animais magros aumentou os estoques de glicogênio muscular (34% e 82%), respectivamente em relação aos animais do grupo OB-TR e OB-SED ( $p < 0,05$ ). Porém, vale destacar uma tendência do treinamento físico em reverter os efeitos da dieta hiperlipídica sobre os estoques de glicogênio muscular, com o grupo OB-TR demonstrando valores aumentados (aproximadamente 36%) em relação ao grupo OB-SED ( $p = 0,127$ ).

Figura 18 - Conteúdo de glicogênio hepático e muscular.



Legenda: fígado (A) e músculo sóleo (B). Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=5-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-TR; <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-SED; <sup>c</sup> $p < 0,05$  comparado a CTR-SED; <sup>d</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-SED. mg: miligrama. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

### 5.1.6 Discussão

Os resultados demonstram que ratos obesos, alimentados com dieta hiperlipídica, apresentam aumento na massa corporal, elevação da adiposidade visceral, e deposição de lipídios ectópicos que prejudicam a flexibilidade metabólica dos tecidos periféricos em ressintetizar glicogênio. Por sua vez, o treinamento físico na modalidade natação atenuou o aumento da massa corporal, além de concomitantemente normalizar a adiposidade intraperitoneal e impedir a queda do conteúdo de glicogênio muscular nos animais OB-TR, no entanto, não se mostrou eficaz em reduzir a deposição ectópica de lipídios, nem em restaurar a flexibilidade metabólica do fígado em estocar glicogênio.

O uso de dieta hiperlipídica em modelos experimentais, como ratos e camundongos, se mostrou e, ainda se mostra, uma abordagem extremamente eficaz para o estudo da obesidade (ESTADELLA et al., 2004; SPEAKMAN, 2019), uma vez que esse modelo reflete de maneira similar as modificações metabólicas e cardiovasculares observadas na obesidade humana (FERNANDES et al., 2013; HARIRI; THIBAUT, 2010). Sendo assim, na etapa 1 deste estudo, nosso objetivo foi induzir a obesidade nos animais através do uso de dieta hiperlipídica previamente descrita por Estadella e colaboradores (2004). Nosso grupo de pesquisa tem demonstrado que a oferta desta dieta em ratos Wistar promove alterações na composição corporal acompanhada por aumentos na massa corporal final (ESTADELLA et al., 2004). No presente estudo, os animais OB-SED exibiram aumento da massa corporal, da gordura epididimal, retroperitoneal e mesentérica (correspondente a gordura visceral em seres humanos), hipertrofia dos adipócitos no depósito epididimal, deposição de lipídios ectópicos no fígado e reduzido conteúdo de glicogênio hepático em relação ao seu respectivo grupo controle (CTR-SED). Utilizando este mesmo modelo de obesidade, prévios trabalhos do nosso laboratório relataram a ocorrência de importantes alterações metabólicas, como dislipidemias (DUARTE et al., 2006), aumento da adiposidade corporal (ESTADELLA et al., 2004; SENE-FIORESE et al., 2008), aumento da pressão arterial (OISHI et al., 2018) e instalação de um estado inflamatório (ARRAIS-LIMA, 2020).

Já é bem estabelecido na literatura que o acúmulo de gordura visceral está associado aos distúrbios metabólicos e inflamatórios ocasionados pela obesidade (JACOBS et al., 2016; LOPES et al., 2016). Neste contexto, o aumento da massa do TAB intraperitoneal (hipertrofia) pode alterar a estrutura e causar um remodelamento patológico dos adipócitos brancos, originando um estado de hipóxia e conseqüentemente uma desregulação endócrina que resulta na secreção de citocinas inflamatórias e, em desarranjos metabólicos (VETTOR; CONCI,

2019). Essa expansão patológica dos adipócitos na obesidade é denominado de adiposopatia, e constitui um dos principais parâmetros indutores da síndrome metabólica (DENIS; OBIN, 2013). Nossos resultados apontaram aumento da massa de TAB visceral e hipertrofia dos adipócitos no depósito epididimal, sendo coerentes a dados publicados previamente por nosso grupo, utilizando das mesmas condições metodológicas do presente trabalho (SENE-FIORESE et al., 2008; SPERETTA et al., 2012). Sendo assim, nesta etapa do trabalho foi confirmado o processo de obesidade nos animais alimentados com dieta hiperlipídica.

Posteriormente, nosso objetivo foi avaliar o impacto do treinamento físico na adiposidade visceral e no metabolismo dos lipídios e carboidratos. O treinamento físico é considerado uma polipílula não-farmacológica com efeitos positivos na obesidade, como redução ou atenuação da massa corporal, diminuição da gordura visceral, melhora da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina e reversão do quadro de esteatose hepática não-alcoólica (FIUZA-LUCES et al., 2013). Neste sentido, foi observado que o treinamento físico na modalidade natação por 8 semanas atenuou o aumento da massa corporal, reduziu a deposição e o tamanho dos adipócitos da gordura epididimal, e o índice de adiposidade nos animais OB-TR. É interessante observar que a diminuição da adiposidade visceral ocorreu mesmo na ausência de reduções na massa corporal, com os animais OB-TR demonstrando um índice de adiposidade semelhante aos valores observados nos animais controles. Esses dados sugerem que a perda de massa gorda pode ocorrer independente de mudanças na massa corporal, indicando a eficiência do treinamento físico na redução da gordura visceral e na resistência ao ganho de peso quando adotado como única abordagem no contexto da obesidade.

Nossos resultados são interessantes, já que prévios trabalhos presentes na literatura demonstram que a redução na massa de TAB visceral melhora o risco cardiovascular e metabólico, sendo as mudanças na gordura intraperitoneal considerada mais importantes do que as reduções na massa corporal total no gerenciamento do processo de obesidade (ROSS; SONI; HOULE, 2020; VERHEGGEN et al., 2016). Verheggen e colaboradores (2016) em uma breve revisão sistematizada e meta-análise demonstraram que apesar do treinamento físico apresentar pequenos efeitos na diminuição da massa corporal total, o mesmo demonstra resultados superiores na redução da gordura visceral quando comparado a intervenções dietéticas em indivíduos obesos ou com sobrepeso (VERHEGGEN et al., 2016). No mesmo estudo, os autores sugerem que avaliações apenas através de mudanças na massa corporal total podem conduzir a uma conclusão equivocada quanto da eficácia do treinamento físico em indivíduos obesos, na qual a redução da gordura visceral acontece mesmo na ausência de perda de peso significativa pelo exercício físico (VERHEGGEN et al., 2016).

Em animais, os efeitos do treinamento físico na adiposidade visceral são amplamente explorados na literatura. Alguns trabalhos que utilizaram do treinamento físico de natação como única abordagem no contexto da obesidade (sem restrição calórica ou alteração dietética) demonstraram significativa redução da adiposidade intraperitoneal e uma resistência no ganho de massa corporal, corroborando com os resultados encontrados em nosso trabalho (ROCHA-RODRIGUES et al., 2017a; SCHULTZ et al., 2012; SPERETTA et al., 2012). Por exemplo, Rocha-Rodrigues e colaboradores (2016) observaram expressiva redução em todos os depósitos de gordura visceral em ratos Sprague-Dawley obesos após um regime de atividade voluntária ou corrida em esteira em intensidade moderada por 8 semanas, corroborando com prévios estudos de sua mesma autoria (ROCHA-RODRIGUES et al., 2016, 2017b, 2017a). Speretta e colaboradores (2012), ao analisarem os depósitos de tecido adiposo visceral em ratos obesos treinados durante 8 semanas na modalidade natação (intensidade de 5% da massa corporal) ou em escada, encontraram significativa redução na gordura visceral, na área dos adipócitos epididimal e, uma melhora do colesterol total nos animais obesos treinados em comparação aos sedentários (SPERETTA et al., 2012). Alguns trabalhos também demonstraram a associação da redução da adiposidade intraperitoneal com modificações em parâmetros metabólicos e inflamatórios. Arrais-Lima (2020) ao analisar o impacto do treinamento físico de intensidade moderada (5% da massa corporal) na modalidade natação em ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica, demonstrou que o esforço físico foi capaz de reverter o aumento da adiposidade corporal total, intraperitoneal e a deposição de lipídios intramuscular (especialmente no tecido conjuntivo) nos animais obesos treinados, com tais alterações sendo acompanhadas por atenuação na secreção de citocinas inflamatórias, como IL-6 e TNF- $\alpha$ , aumento na secreção da citocina anti-inflamatória IL-4 e da miocina irisina, demonstrando assim, a relação existente entre a redução da massa adiposa visceral com a melhora do fenótipo metabólico e a diminuição da pró-resolução inflamatória através da prática do treinamento físico (ARRAIS-LIMA, 2020).

Sabendo-se que os fatores intensidade, frequência, duração e modalidade do treinamento físico promovem diferentes adaptações fisiológicas que poderiam estar atreladas a essas respostas, nosso grupo de pesquisa investigou os efeitos de dois diferentes protocolos de exercício aeróbio na modalidade natação e um protocolo de treinamento físico intervalado de alta intensidade em esteira ergométrica, em um modelo experimental de obesidade semelhante ao empregado neste estudo. Similar aos nossos achados, Sene-Fiorese e colaboradores (2008) demonstraram que ambos os protocolos intermitente (3 sessões diárias de 30min de duração) e contínuo (única sessão diária com 90min de duração) de exercício aeróbio de moderada

intensidade (5% da massa corporal) na modalidade natação, promoveram reduções na adiposidade intraperitoneal e modificaram parâmetros metabólicos associados a obesidade, com uma maior eficiência do fracionamento do exercício físico ao longo do dia (grupo intermitente) em relação a atividade contínua extensiva sendo encontrada sobre tais parâmetros (SENE-FIORESE et al., 2008). Por sua vez, Costa (2017) demonstrou que o treinamento físico intervalado de alta intensidade se mostrou ineficaz em atenuar ou reduzir o aumento da gordura intraperitoneal de ratos obesos e também, em alterar o estado inflamatório sistêmico, apesar de reduções significativas terem sido encontradas na gordura corporal total (COSTA, 2017).

A perda de gordura intraperitoneal através da prática do treinamento físico aeróbico de baixa a moderada intensidade passa pela ativação dos receptores  $\beta$ 3-adrenérgicos nos adipócitos brancos, com subsequente aumento da taxa lipolítica (mobilização) e oxidação de ácidos graxos livres, promovendo a redução do conteúdo de lipídios e do tamanho dos adipócitos, como demonstrado na análise histológica do depósito epididimal dos animais OB-TR (KEATING et al., 2017). Estudos anteriores que utilizaram do exercício aeróbico de baixa a moderada intensidade mostraram um aumento da descarga simpática, da concentração de catecolaminas circulantes, e da mobilização de ácidos graxos dos depósitos de TAB visceral com o treinamento físico (ARNER et al., 1990, 2019). Ademais, o treinamento físico conduz a adaptações estruturais e bioquímicas na musculatura esquelética e no TAB (com cada depósito apresentando uma adaptação específica frente ao treinamento físico), entre elas, a neovascularização e a biogênese mitocondrial, que aumentam a capacidade de mobilização, reesterificação e oxidação desse substrato (ARNER et al., 1990; EGAN; ZIERATH, 2013; LEHNIG et al., 2019; MCKIE; WRIGHT, 2020; TOWNSEND; KNUTH; WRIGHT, 2017). Parte destas adaptações ocorrem através da liberação de inúmeras miocinas e adipocinas que apresentam efeitos lipolíticos e/ou termogênico (indução do processo de browning principalmente no depósito subcutâneo) no TAB que favorecem a melhora da flexibilidade metabólica neste tecido (VIDAL; STANFORD, 2020; MCKIE; WRIGHT, 2020). Assim, são necessários posteriores estudos para verificar se os efeitos do treinamento físico sobre a adiposidade visceral ocorreram similarmente a adaptações bioquímicas e estruturais no TAB e músculo esquelético, e se tais fatores endócrinos com ações metabólicas e termogênicas tiveram elevações na sua concentração plasmática ou tecidual.

A partir dos resultados positivos obtidos na adiposidade visceral com o treinamento físico, decidimos investigar o conteúdo de lipídios na gordura epididimal (o principal depósito de TAB visceral afetado pelo treinamento físico), no fígado e músculo sóleo, para visualizar se a redução da adiposidade intraperitoneal veio acompanhada de aumentos na oxidação e/ou

esterificação/deposição desse substrato nos tecidos periféricos. Como esperado, o consumo de dieta hiperlipídica aumentou o acúmulo de lipídios por grama de fígado nos animais OB-SED. Além disso, observamos uma tendência na redução do conteúdo de lipídios no depósito epididimal com a obesidade, sugerindo que os adipócitos hipertrofiados deste tecido excederam sua capacidade transiente de estocar lipídios. No entanto, ao contrário da nossa hipótese inicial, o treinamento físico não alterou as concentrações de lipídios totais no fígado e músculo esquelético nos animais obesos e controles treinados. Esses dados são surpreendentes, especialmente em razão da ausência de modificações no conteúdo de lipídios no fígado nos animais OB-TR em relação aos OB-SED, sugerindo que a redução da adiposidade intraperitoneal não esteve associada a modificações periféricas na deposição de lipídios, indicando assim, uma taxa oxidativa defeituosa para a grande sobrecarga de gordura provenientes de ambos, esforço físico e consumo dietético, o que provavelmente favoreceu a reesterificação e deposição de lipídios ectópicos.

De fato, o consumo prolongado de dieta hiperlipídica contribui para o aumento da captação de gorduras e para a síntese *de novo* de TG, contudo, na obesidade a taxa de oxidação mitocondrial e secreção de TG na forma de VLDL é reduzida, levando a uma inflexibilidade metabólica dos tecidos periféricos (TRINCHESE et al., 2020). Além disso, o estado obesogênico induzido pela dieta hiperlipídica promove maior secreção de citocinas inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , tendo este, um forte efeito lipolítico sobre os adipócitos viscerais através da redução da sensibilidade a insulina (CAWTHORN; SETHI, 2008).

Não obstante, nossos achados se opõem a prévios trabalhos que demonstraram a redução na deposição desse substrato de maneira ectópica, especialmente na forma de TG no fígado e músculo esquelético de camundongos e ratos obesos submetidos a protocolos agudos e crônicos de exercício aeróbico ou resistido (MUÑOZ et al., 2018; PEREIRA et al., 2019; SENE-FIORESE et al., 2008; ARRAIS-LIMA, 2020). Dessa forma, infere-se que o efeito da dieta hiperlipídica se sobrepôs ao treinamento físico, no qual, apesar deste promover a redução da massa adiposa visceral, não foi eficaz em alterar o conteúdo de lipídios hepático. A razão da discrepância entre nossos resultados e dos estudos anteriores ainda não é clara, mas podemos levantar a possibilidade das diferenças estarem atreladas: (i) ao modelo experimental (ratos Wistar contra camundongos C57BL/6J - (MUÑOZ et al., 2018; PEREIRA et al., 2019); (ii) ao tempo de indução da obesidade (12 semanas contra 4 semanas (SENE-FIORESE et al., 2008); (iii) a frequência e volume semanal de treinamento físico (3 vezes na semana com 60 minutos por sessão contra 5 vezes na semana com 60 minutos por sessão (SENE-FIORESE et al., 2008)) e (iv) a análise do conteúdo de lipídios versus o perfil lipídico hepático, especialmente no

conteúdo de TG (MUÑOZ et al., 2018; PEREIRA et al., 2019). Além disso, a presença de algumas limitações no estudo, como ausência da realização de um teste de tolerância oral a glicose, teste de tolerância a insulina, análise do perfil lipídico, análise sérica e tecidual de citocinas pró e anti-inflamatórias e, análise histológica hepática, nos impede de afirmar se a ausência dos efeitos do treinamento físico no conteúdo de lipídios hepáticos esteve associada a resistência à insulina, a presença de um estado inflamatório e/ou se a dieta causou uma lesão grave no fígado que não pode ser revertida ou amenizada com o treinamento físico, sendo assim, posteriores estudos são necessários para responder essas questões.

Apesar do treinamento físico resultar em inúmeras adaptações positivas no fígado e músculo esquelético, incluindo a melhora da sensibilidade a insulina e aumento da concentração de glicogênio muscular em ambos roedores e seres humanos (MANABE et al., 2013), a presença de um desarranjo metabólico no metabolismo dos ácidos graxos visualizados anteriormente nos animais obesos, nos levou a deduzir que a manutenção da oferta dessa dieta também ocasionaria prejuízos na flexibilidade metabólica dos tecidos periféricos em utilizar carboidratos como substrato energético durante o trabalho celular e na ressíntese de glicogênio após o estímulo físico. Ao analisarmos o conteúdo de glicogênio no fígado e músculo sóleo encontramos uma elevação nesta variável nos animais CTR-TR e uma redução significativa de glicogênio muscular nos animais OB-SED.

De fato, é comumente aceito que o acúmulo de lipídios no fígado está associado à indução de resistência à insulina. Nesta situação, os tecidos periféricos, como músculo esquelético e o fígado aumentam a captação de ácidos graxos livres presentes no plasma. O TAB visceral drena diretamente ácidos graxos pelo sistema venoso portal ao fígado. O aumento da disposição de ácidos graxos livres estimula a gliconeogênese hepática, prejudica a síntese de glicogênio estimulada por insulina e conseqüentemente aumenta a concentração de glicose plasmática. Além dos ácidos graxos, outros lipídios biologicamente ativos também se acumulam no parênquima hepático, como ceramidas e diacilgliceróis, que interferem na via de sinalização da insulina (ZABIELSKI et al., 2019).

Assim, prévios estudos corroboram com nossos achados ao apontarem que animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica demonstram uma menor concentração de glicogênio muscular e elevação na glicose sanguínea, enquanto que animais magros treinados aumentam seus estoques de glicogênio hepático e muscular (BERNARDES et al., 2004; RAVAGNANI et al., 2012). Por exemplo, Bernardes e colaboradores (2004) mostraram resultados similares aos encontrados no presente estudo, com os efeitos da dieta hiperlipídica se sobrepondo à ressíntese de glicogênio hepático e muscular em relação ao treinamento físico (BERNARDES et al.,

2004). Um pouco mais recente, Ravagnani e colaboradores (2012) demonstraram que em animais alimentados com dieta hiperlipídica, o treinamento físico não foi capaz de aumentar os estoques de glicogênio muscular e hepático nos animais obesos (RAVAGNANI et al., 2012), Portanto, a exposição prolongada ao consumo de dieta hiperlipídica e conseqüentemente à obesidade, promovem desarranjos metabólicos no tecido muscular e hepático que prejudicam a resposta tecidual quanto à entrada de glicose e seu armazenamento na forma de glicogênio perante o treinamento físico.



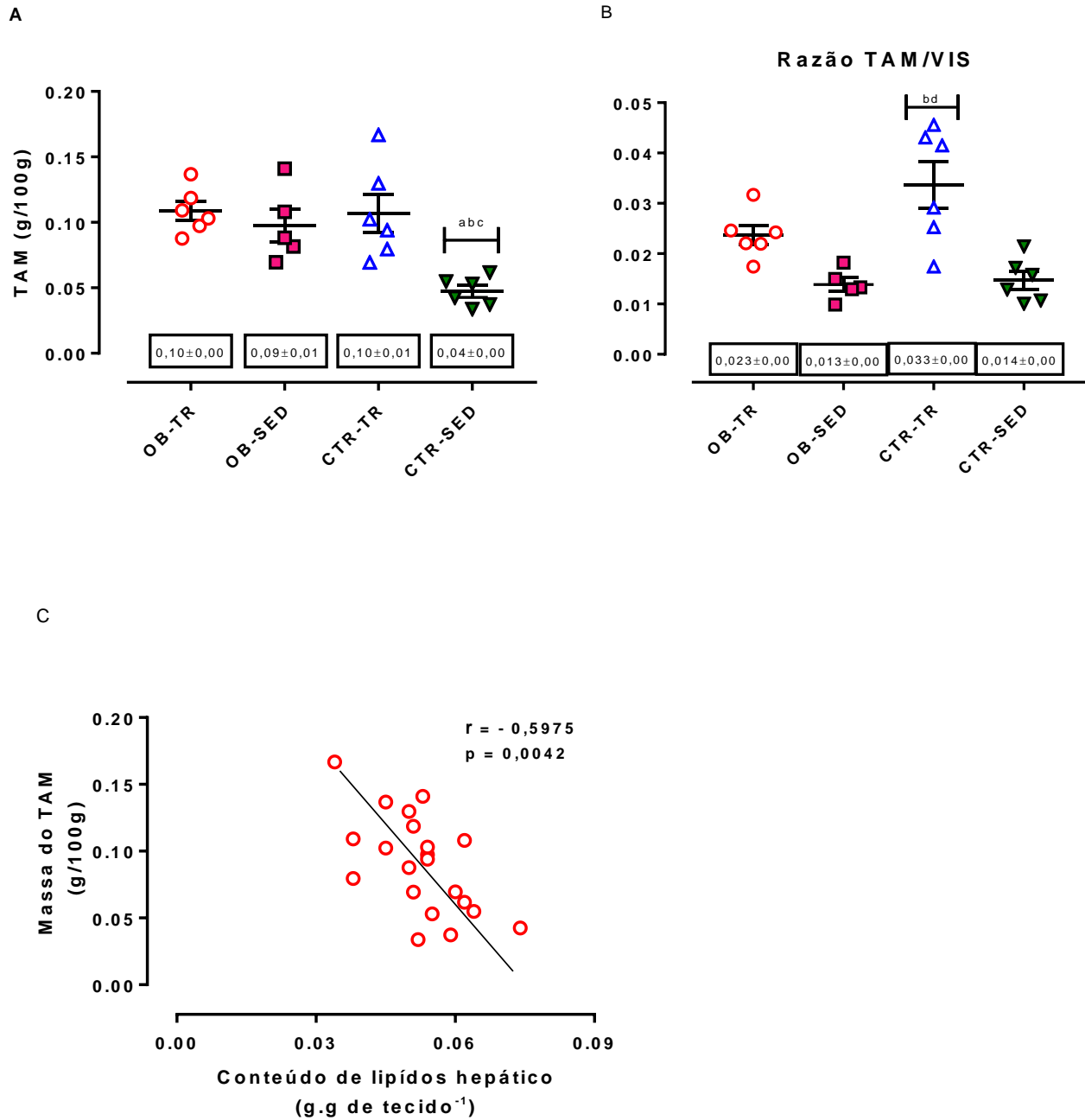
## 5.2 PARTE 2: RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DIETA HIPERLIPÍDICA NO TAM

### 5.2.1 Massa relativa, razão TAM/gordura visceral e correlação com lipídios no fígado.

A figura 19 apresenta os valores da massa relativa do TAM (painel A), a razão entre a massa do TAM interescapular e gordura visceral (painel B), e a correlação entre o TAM e o conteúdo de lipídios no fígado (painel C). De maneira interessante, animais controles sedentários apresentaram menor massa relativa de TAM em comparação a todos os outros grupos ( $p < 0,05$ ), não sendo encontrados modificações entre os animais obesos e, em relação ao grupo CTR-TR ( $p > 0,05$ ).

Na sequência, analisamos a relação entre a gordura visceral e a gordura marrom (a soma dos depósitos intraperitoneal [epididimal, retroperitoneal e mesentérico] / massa de TAM interescapular). Foram observados um aumento significativo deste parâmetro nos animais CTR-TR em comparação aos respectivos grupos sedentários, OB-SED e CTR-SED ( $p < 0,05$ ). Esse dado indica uma redução da sobreposição da gordura visceral sobre a gordura marrom com o treinamento físico nos animais magros. Posteriormente, investigamos se a massa de TAM poderia estar correlacionada com alguns dos parâmetros metabólicos analisados neste estudo. Verificamos uma correlação negativa entre a massa de TAM e o conteúdo de lipídios no fígado ( $r = - 0,5975$ ,  $p = 0,0042$ ).

Figura 19 - Efeitos do treinamento físico e da dieta hiperlipídica sobre a massa relativa do TAM, razão TAM/TAB visceral e correlação entre TAM e conteúdo de lipídios hepático.



Legenda: massa do TAM (A), sobreposição da gordura branca visceral sobre a gordura marrom (B), correlação entre a massa do TAM e o conteúdo de lipídios (C). Os dados representam a média  $\pm$  SEM de  $n=4-6$  animais/grupo dos grupos: obeso sedentário (OB-SED), obeso treinado (OB-TR), controle sedentário (CTR-SED) e controle treinado (CTR-TR). <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-TR; <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado a OB-SED; <sup>c</sup> $p < 0,05$  comparado a CTR-TR; <sup>d</sup> $p < 0,05$  comparado a CTR-SED. g: grama. Fonte: elaborada pelo próprio autor.

## 5.2.2 Discussão

Devido a sua alta capacidade em dissipar o excedente energético como calor, aumentando assim o gasto calórico e regulando os níveis sistêmicos da glicose e ácidos graxos, o TAM encontra-se em uma posição chave como potencial alvo para o tratamento da obesidade, diabetes e outras condições metabólicas (LEIRIA et al., 2019; TOWNSEND; TSENG, 2014). Nesta etapa do trabalho, investigamos os efeitos do treinamento físico, dieta hiperlipídica e da interação entre os fatores na massa do TAM interescapular. Para separar os efeitos promovidos pelo frio sobre os adipócitos marrons, os animais foram alojados em termoneutralidade (28°C). Estudos apontam uma diminuição na massa relativa do TAM e na expressão proteica de UCP1 (entre 10 a 20 vezes) entre animais aclimatados em termoneutralidade (30°C) e temperatura ambiente (22-24°C) (FELDMANN et al., 2009; FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2017, 2018; MCKIE et al., 2019). Além disso, há uma semelhança fenotípica entre o TAM interescapular de roedores obesos aclimatados em termoneutralidade com os adipócitos marrons supraclavicular de humanos adultos (DE JONG et al., 2019).

A partir dos resultados apresentados, observamos que o treinamento físico por 8 semanas aumentou a massa relativa do TAM interescapular nos animais magros. É interessante analisar que os valores da massa de gordura marrom entre os animais CTR-TR e os animais obesos não demonstraram diferenças significativas, sendo todos superiores aos animais CTR-SED. Esses dados sugerem que ambos os fatores, treinamento físico e dieta hiperlipídica levam ao aumento da massa de gordura marrom. De fato, estudos anteriores que investigaram os efeitos da dieta hiperlipídica isolado ou combinado com o treinamento físico de moderada intensidade demonstraram elevações neste parâmetro (ALDISS et al., 2020; DEWAL; STANFORD, 2019; EGUCHI et al., 2008; FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020; LEITE; 2014; SENE-FIORESE et al., 2008). Por outro lado, o estudo de Lehnig e colaboradores (2019) mostraram uma redução na massa do TAM interescapular de camundongos magros submetidos a 3 semanas de corrida voluntária e alojados em temperatura ambiente (24°C), enquanto, McKie e colaboradores (2019) demonstraram redução na massa do TAM em animais sedentários e treinados alojados em termoneutralidade, indo ao encontro de prévios estudos da década de 80 e 90, que demonstraram uma significativa redução da massa do TAM com o treinamento físico (ARNOLD; RICHARD, 1987; SEGAWA et al., 1998).

Entretanto, recentes trabalhos vêm demonstrando que alterações na massa do TAM com a obesidade induzida por dieta hiperlipídica ou através do treinamento físico, necessariamente não representa um marcador da atividade termogênica do tecido, seja para caracterizar uma

possível atrofia ou ativação (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020; ALDISS et al., 2020; LEHNIG et al., 2019). Por exemplo, prévios estudos demonstraram que o aumento no peso líquido do TAM interescapular com a exposição ao frio frequentemente vem associado a elevação na expressão de UCP1 e na resposta termogênica induzida por noradrenalina. Contudo, a massa dos adipócitos marrons também se eleva em condições de inatividade e obesidade, principalmente em razão do aumento da deposição de lipídios nas gotículas multiloculares, com trabalhos encontrando elevações na expressão de genes e proteínas termogênicas (processo de termogênese facultativa induzida por dieta), ou de redução na capacidade termogênica através da presença do processo de branqueamento (FISCHER; CANNON; NEDERGAARD, 2020; LUIJTEN et al., 2019; VON ESSEN et al., 2017; ROTHWELL; STOCK, 1979).

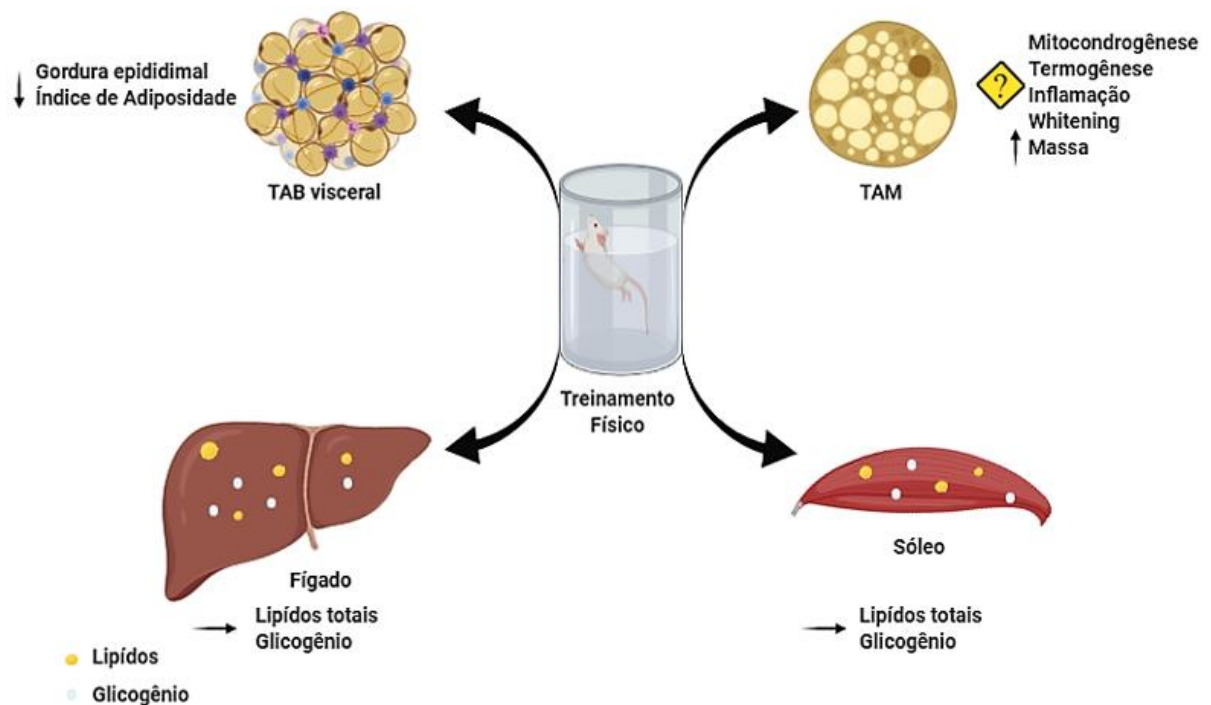
Ademais, ao analisarmos a razão entre TAM e TAB visceral, encontramos que com o treinamento físico à uma redução da interposição da gordura branca sobre a gordura marrom. Também foi visualizado uma correlação negativa entre a massa dos adipócitos marrons com os lipídios hepáticos, levantando a suposição da hipertrofia do TAM e/ou elevação da atividade termogênica contrapor a lipotoxicidade hepática ocasionada pelo remodelamento patológico dos adipócitos brancos hipertrofiados na situação de obesidade. Estes resultados podem estar atrelados a função endócrina dos adipócitos marrons, como levantado por Lynes e colaboradores (2017) e Leiria e colaboradores (2019), ao demonstrarem em prévios trabalhos a ação autócrina e endócrina do TAM através da biossintetização e secreção de batiocinas (LYNES et al., 2017; LEIRIA et al., 2019). Dentre essas, a 12 hydroxyeicosapentaenoic acid (12-HEPE) e a 12,13 diHOME se mostram eficazes em reduzir a *de novo* lipogênese hepática e auxiliar na captação e oxidação de glicose e lipídios no TAM e músculo esquelético, respectivamente através da sua ligação a receptores acoplados a proteína Gs (LEIRIA et al., 2019; LYNES et al., 2017). Além disso, Stanford e colaboradores (2018) também demonstraram um aumento da secreção da batiocina 12,13 diHOME com o exercício físico agudo, em ambos roedores e seres humanos, levantando a possibilidade das adaptações metabólicas induzidas pela termogênese adaptativa ocorrerem não somente pela produção de calor no TAM, mas também nos tecidos periféricos através da ação de batiocinas secretadas pelo estímulo da prática do exercício físico.

Assim, para determinar se o aumento da massa dos adipócitos marrons refletiu em modificações na ativação e recrutamento do TAM (modulação termogênica e endócrina), e se está associada com o conteúdo de lipídios hepático, o ideal seria avaliar o conteúdo de proteínas totais, já que de acordo com Fischer e colaboradores (2020), uma alta atividade termogênica do

TAM está associado a um elevado conteúdo proteico, ao invés do conteúdo de lipídios e/ou do peso líquido do tecido e, além disso, analisar a expressão proteica de UCP1 e PGC1- $\alpha$ , um coativador transcricional necessário para a ativação das vias centrais da termogênese e da biogênese mitocondrial, usualmente associado ao aumento de UCP1. Neste estudo fizemos a coleta do material para a realização da expressão proteica e do mRNA de alguns genes envolvidos na função termogênica dos adipócitos marrons, como Elovl6, citocromo-c oxidase, deiodinase 2, além da UCP1 e PGC1- $\alpha$ . No entanto, por motivos ainda incertos tanto a expressão gênica quanto a análise proteica resultou em medidas incompatíveis de serem apresentadas ( $\Delta$ Ct elevado para todos os grupos e genes) e, uma ausência da visualização da banda dos anticorpos analisados (para análise de Western Blotting). Esses fatos refletem uma limitação do estudo, que foi desenhado justamente com a pergunta principal relacionada a atividade termogênica do TAM e a hipótese de que o treinamento físico é um estímulo com capacidade de ativar a termogênese adaptativa nos adipócitos marrons de animais alojados em termoneutralidade.

A figura 20 resume os principais resultados encontrados neste estudo com a prática do treinamento físico, especialmente nos animais obesos.

Figura 20 - Resumo dos principais resultados encontrados no presente estudo.



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, conclui-se que ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica apresentam prejuízos em relação a flexibilidade metabólica nos tecidos periféricos (fígado e músculo esquelético). Além disso, o treinamento físico de intensidade moderada se mostrou eficaz em reduzir a adiposidade visceral e, atenuar o ganho de massa corporal quando adotado como única abordagem presente frente ao estímulo obesogênico da constante oferta de alimentos altamente calóricos ricos em gordura. No entanto, os resultados apontam também que, a manutenção da oferta energética rica em gordura se sobrepõe aos efeitos benéficos do treinamento físico em reverter o quadro de inflexibilidade metabólica imposta pela obesidade, ou seja, a constante oferta de lipídios cria mecanismos de conservação de energia na forma de gordura, prejudicando a capacidade oxidativa dos ácidos graxos e de ressíntese dos carboidratos no fígado e músculo esquelético.

Ademais, ambos treinamento físico e dieta hiperlipídica aumentaram a massa do TAM, com o treinamento físico diminuindo a sobreposição de gordura branca visceral em relação a gordura marrom, e a massa relativa do TAM demonstrando uma correlação negativa com o conteúdo de lipídios hepáticos. Entretanto, a ausência da mensuração de genes e proteínas termogênicos nos limita a deduzir ou afirmar se tais mudanças estão relacionadas a um mecanismo de proteção ao ganho de massa corporal e de preservação da flexibilidade metabólica através do processo de termogênese adaptativa (facultativa para a induzida por dieta hiperlipídica) ou, se a hipertrofia dos adipócitos marrons veio acompanhada de aumento da deposição de lipídios e redução da capacidade termogênica (processo de branqueamento), sendo assim, necessários posteriores estudos para responder essas questões.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFSHIN, A. et al. GBD 2015 Obesity Collaborators: Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **The New England journal of medicine**, v. 377, p. 13–27, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1056/nejmoa1614362>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ALCALÁ, M. et al. Mechanisms of impaired brown adipose tissue recruitment in obesity. **Frontiers in Physiology**, v.13, p.94, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00094>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ALDISS, P. et al. Interscapular and perivascular brown adipose tissue respond differently to a short-term high-fat diet. **Nutrients**, v. 13, p.1065, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/nu11051065>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ALDISS, P. et al. Exercise Training in Obese Rats Does Not Induce Browning at Thermoneutrality and Induces a Muscle-Like Signature in Brown Adipose Tissue. **Frontiers in Endocrinology**, v. 20, p.11-97, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00097>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ARRAIS-LIMA, C. Análise das alterações musculares de ratos obesos frente a intervenção do exercício de natação - um estudo envolvendo a composição corporal, morfologia muscular e citocinas circulantes. 2020, p. 51. Tese (doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/12348>>. Acesso em: 23 jun. 2020

ARNER, E. et al. Adipocyte turnover: Relevance to human adipose tissue morphology. **Diabetes**, v. 59, p. 105-109, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/db09-0942>>; Acesso em: 30 jun. 2020

ARNER, P. et al. Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. **Journal of Clinical Investigation**, v. 85, p.893-898, 1990. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci114516>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ARNER, P. et al. Adipose lipid turnover and long-term changes in body weight. **Nature Medicine**, v. 25, p.1385-1389, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0565-5>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ARNOLD, J.; RICHARD, D. Unaltered regulatory thermogenic response to dietary signals in exercise-trained rats. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 252, n.3, p. 617-623, 1987. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1987.252.3.r617>> Acesso em: 30 jun. 2020

BARTELT, A. et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. **Nature Medicine**, v. 17, n. 2, pg. 200-205, 2011. Disponível em:<<https://doi.org/10.1038/nm.2297>>. Acesso em: 30 jun. 2020

BERNARDES, D. et al. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. **Rev. bras. educ. fís. esp**, v. 18, n. 2, pg. 191-200, 2004.

BOSTRÖM, P. et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 463–468, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature10777>>. Acesso em: 30 jun. 2020

BRAY, G. A. et al. Management of obesity. **The Lancet**, v. 387, n. 10031, pg. 1947-1956, 2016. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)00271-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)00271-3)> Acesso em: 30 jun. 2020

BRAY, G. A. et al. The science of obesity management: An endocrine society scientific statement. **Endocrine Reviews**, v. 1, n. 39, pg. 79-132, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1210/er.2017-00253>>. Acesso em: 30 jun. 2020

CAMARGO FILHO, J. C. S. et al. Efeitos do esteróide anabólico nandrolona sobre o músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico através de natação: estudo histológico, histoquímico e morfométrico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 5, p. 23-247, 2006.

CAMASTRA, S. et al. Muscle and adipose tissue morphology, insulin sensitivity and beta-cell function in diabetic and nondiabetic obese patients: Effects of bariatric surgery. **Scientific Reports**, v. 21, n. 7, p. 9007, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-017-08444-6>>. Acesso em: 30 jun. 2020

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 1, p. 277–359, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CASAZZA, K. et al. Myths, presumptions, and facts about obesity. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 23, p. 446-454, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmsa1208051>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CAWTHORN, W. P.; SETHI, J. K. TNF- $\alpha$  and adipocyte biology. **FEBS Letters**, v. 582, n. 1, p. 117-131, 2008. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.febslet.2007.11.051>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CHONDRONIKOLA, M. et al. Brown Adipose Tissue Activation Is Linked to Distinct Systemic Effects on Lipid Metabolism in Humans. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 23, p. 1200-1206, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.029>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CHOUCHANI, E. T. et al. Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1. **Nature**, v. 532, n. 7597, p. 112-116, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature17399>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CHOUCHANI, E. T.; KAJIMURA, S. Metabolic adaptation and maladaptation in adipose tissue. **Nature Metabolism**, v.1, n. 2, p. 189-200, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s42255-018-0021-8>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CINTI, S. et al. CL316,243 and cold stress induce heterogeneous expression of UCP1 mRNA and protein in rodent brown adipocytes. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v.50,



n. 1, p. 21-31, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/002215540205000103>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CINTI, S. The Adipose Organ. In: [s.l.] Springer, Cham, p. 51-74, 2019.

CLEGG, D. J. et al. Consumption of a high-fat diet induces central insulin resistance independent of adiposity. **Physiology and Behavior**, v. 103, n. 1, p. 10-16, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.01.010>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

COSTA, L. R. Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade na composição corporal, na regulação do processo inflamatório e do metabolismo de ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica. 2017, p. 52. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/9512>> Acesso em: 23 jun.2020

COUDRAY, C. et al. Evidence for the presence of several phosphodiesterase isoforms in brown adipose tissue of Zucker rats: Modulation of PDE2 by the fa gene expression. **FEBS Letters**, v. 456, n. 1, p. 207-210, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(99\)00934-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(99)00934-5)>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CYPESS, A. M. et al. Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. **N Engl J Med**. v. 360, n. 15, p. 1509-1517, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmoa0810780>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CYPESS, A. M. et al. Anatomical localization , gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. **Nature Medicine**, n. 19, n. 5, p. 635-539, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nm.3112>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

CYPESS, A. M. et al. Activation of human brown adipose tissue by a  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist. **Cell Metabolism**, v. 21, n. 1, p. 33-38, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.009>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DE-LIMA-JÚNIOR, J. C. et al. Abnormal brown adipose tissue mitochondrial structure and function in IL10 deficiency. **EBioMedicine**, v. 39, p. 436-447, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.11.041>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DE JONG, J. M. A. et al. Human brown adipose tissue is phenocopied by classical brown adipose tissue in physiologically humanized mice. **Nature Metabolism**, v. 1, n. 8, p. 830-843, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s42255-019-0101-4>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DE MATTEIS, R. et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 6, p. 582-590, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.01.013>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DE PERGOLA, G.; SILVESTRIS, F. Obesity as a major risk factor for cancer. **Journal of Obesity**, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2013/291546>>. Acesso em: 30 jun. 2020

DEMINE; RENARD; ARNOULD. Mitochondrial Uncoupling: A Key Controller of Biological Processes in Physiology and Diseases. **Cells**, v. 8, n. 8, p. 795, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.3390/cells8080795>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DENIS, G. V.; OBIN, M. S. “Metabolically healthy obesity”: Origins and implications. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 34, n. 1, p. 59-70, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.004>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DEWAL, R. S.; STANFORD, K. I. Effects of exercise on brown and beige adipocytes. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1864, n. 1, p. 71-78, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.04.013>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DITTNER, C. et al. At thermoneutrality, acute thyroxine-induced thermogenesis and pyrexia are independent of UCP1. **Molecular Metabolism**, v. 25, p. 20-34, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.05.005>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DONNELLY, J. E. et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med. Sci. Sports Exerc**, v. 41, n. 2, p. 459-471, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3181949333>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DUARTE, A. C. G. DE O. et al. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-348, 2006.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EGAN, B.; ZIERATH, J. R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. **Cell Metabolism**, v. 17, n. 2, p. 162-184, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

EGUCHI, R. et al. Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 3, p. 182-187, 2008.

ELLIES, L. G.; JOHNSON, A.; OLEFSKY, J. M. Obesity, inflammation, and insulin resistance. In: **Obesity, Inflammation and Cancer**. p.1-23, 2013.

ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218-224, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.nut.2003.10.008>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FELDMANN, H. M. et al. UCP1 Ablation Induces Obesity and Abolishes Diet-Induced Thermogenesis in Mice Exempt from Thermal Stress by Living at Thermoneutrality. **Cell Metabolism**, v. 9, n. 2, p. 203–209, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.12.014>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FERNANDES, S. A. T. et al. Efeito da dieta hiperlipídica e do treinamento aeróbico na aterosclerose em camundongos apoE<sup>-/-</sup>. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 19, n. 6, p. 436-441, 2013.

FISCHER, A. W.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Leptin-deficient mice are not hypothermic, they are anapyrexia. **Molecular Metabolism**, v. 6, n. 2, p. 173, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.10.012>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FISCHER, A. W.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans: An experimental study. **Molecular Metabolism**, v. 6, n. 2, p.173, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.10.012>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FISCHER, A. W.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Leptin: Is It Thermogenic? **Endocrine Reviews**, v. 41, n. 2, p. 232-260, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1210/edrv/bnz016>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FIUZA-LUCES, C. et al. Exercise is the real polypill. **Physiology**, v. 28, n. 5, p. 330-358, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/physiol.00019.2013>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FLOURIS, A. D. et al. Exercise-induced effects on UCP1 expression in classical brown adipose tissue: A systematic review. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 13, n. 2, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0048>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FREITAS, J. S. et al. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, n. 2, p. 134-138, 2010.

FULLER-JACKSON, J. P.; HENRY, B. A. Adipose and skeletal muscle thermogenesis: Studies from large animals. **Journal of Endocrinology**, v. 237, n. 3, p. 99-115, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1530/joe-18-0090>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FUSTER, J. J. et al. Obesity-induced changes in adipose tissue microenvironment and their impact on cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1786-1807, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1161/circresaha.115.306885>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GAUDRY, M. J.; JASTROCH, M. Molecular evolution of uncoupling proteins and implications for brain function. **Neuroscience Letters**, v. 23, n. 696, p. 140-145, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.12.027>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GESTA, S.; KAHN, C. R. White Adipose Tissue. In: **Adipose Tissue Biology: Second Edition**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 149–199.

GHABEN, A. L.; SCHERER, P. E. Adipogenesis and metabolic health. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 4, p. 242-258, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41580-018-0093-z>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: Mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 9, p. 607-

615, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nri3041>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21-27, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(01\)00362-2](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(01)00362-2)>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GOLLISCH, K. S. C. et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 297, n. 2, p. 495-504, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.90424.2008>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GONZÁLEZ-GARCÍA, I. et al. HYPOTHesizing about central comBAT against obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 76, n. 2, p. 193-211, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13105-019-00719-y>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P. et al. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 15, n. 3, p. 17034, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GOODPASTER, B. H.; SPARKS, L. M. Metabolic Flexibility in Health and Disease. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1027-1036, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.015>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, p. 415-445, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HALPERN, B. et al. Melatonin increases brown adipose tissue volume and activity in patients with melatonin deficiency: A proof-of-concept study. **Diabetes**, v. 68, n. 5, p. 947-952, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/db18-0956>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 270-299, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/s0954422410000168>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HARMS, M.; SEALE, P. Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. **Nature Medicine**, v. 23, n. 2, p. 270-299, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/s0954422410000168>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HIMMS-HAGEN, J.; DESAUTELS, M. A mitochondrial defect in brown adipose tissue of the obese (ob ob) mouse: Reduced binding of purine nucleotides and a failure to respond to cold by an increase in binding. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 83, n. 2, p. 628-634, 28 jul. 1978. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0006-291x\(78\)91036-7](https://doi.org/10.1016/0006-291x(78)91036-7)>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HIRATA, K. Blood Flow to Brown Adipose Tissue and Norepinephrine-induced Calorigenesis in Physically Trained Rats. **The Japanese Journal of Physiology**, v. 32, n. 2, p.279-291, 1982. Disponível em: <<https://doi.org/10.2170/jjphysiol.32.279>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. **Nature**, v. 542, n. 7640, p. 177-185, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature21363>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

JACOBS, K. et al. Association of Nonalcoholic Fatty Liver Disease With Visceral Adiposity but Not Coronary Artery Calcification in the Elderly. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 9, p. 1337-1344, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.01.010>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

JAIS, A.; BRÜNING, J. C. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n.1, p.24-32, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci88878>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

JESPERSEN, N. Z. et al. A classical brown adipose tissue mrna signature partly overlaps with brite in the supraclavicular region of adult humans. **Cell Metabolism**, v. 15, n. 5, p. 798-805, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.04.011>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

JI, Y. et al. Short term high fat diet challenge promotes alternative macrophage polarization in adipose tissue via natural killer T cells and interleukin-4. **Journal of Biological Chemistry**, v.287, n. 29, p. 24378-24386, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1074/jbc.m112.371807>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KAHN, C. R.; WANG, G.; LEE, K. Y. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 3990-4000, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci129187>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KEANE, K. N. et al. The bioenergetics of inflammation: Insights into obesity and type 2 diabetes. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 7, p. 904-912, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/ejcn.2017.45>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KEATING, S. E. et al. A systematic review and meta-analysis of interval training versus moderate-intensity continuous training on body adiposity. **Obesity reviews**, v. 18, n. 8, p. 943-964, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/obr.12536>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KLINGENSPOR, M. et al. Brown adipose tissue. In: **Adipose Tissue Biology: Second Edition**. 2017. p.91-147.

KLÖTING, N. et al. MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue. **PLoS ONE**, v.4, n. 3, p. 4699, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004699>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KONG, X. et al. IRF4 is a key thermogenic transcriptional partner of PGC-1 $\alpha$ . **Cell**, v. 158, n. 1, p. 69-83, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.049>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KONG, X. et al. Brown Adipose Tissue Controls Skeletal Muscle Function via the Secretion of Myostatin. **Cell Metabolism**, v. 28, n. 4, p. 631-643, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.07.004>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KOTZBECK, P. et al. Brown adipose tissue whitening leads to brown adipocyte death and

adipose tissue inflammation. **Journal of Lipid Research**, v. 59, n. 5, p. 784-794, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1194/jlr.m079665>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KREGEL, K. C. et al. Resource book for the design of animal exercise protocols. **American Physiological Society**, v. 152, 2006.

KROTKIEWSKI, M. et al. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. **Journal of Clinical Investigation**, v. 72, n. 3, p. 1150-1162, 1983. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci111040>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LANDSBERG, L. et al. Obesity-Related Hypertension: Pathogenesis, Cardiovascular Risk, and Treatment: A Position Paper of The Obesity Society and the American Society of Hypertension Landsberg et al. Obesity Related Hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 15, n. 1, p. 14–33, jan. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/oby.20181>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LARABEE, C. M.; NEELY, O. C.; DOMINGOS, A. I. Obesity: a neuroimmunometabolic perspective. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 30-43, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41574-019-0283-6>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LEBLANC, J. et al. Effect of diet and exercise on norepinephrine-induced thermogenesis in male and female rats. **Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology**, v. 52, n. 3, p. 556-561, 1982. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/jappl.1982.52.3.556>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LEHNIG, A. C. et al. Exercise Training Induces Depot-Specific Adaptations to White and Brown Adipose Tissue. **iScience**, v. 25, n. 11, p. 425-439, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.isci.2018.12.033>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LEHNIG, A. C.; STANFORD, K. I. Exercise-induced adaptations to white and brown adipose tissue. **Journal of Experimental Biology**, v. 7, n. 221, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1242/jeb.161570>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LEIRIA, L. O. et al. 12-Lipoxygenase Regulates Cold Adaptation and Glucose Metabolism by Producing the Omega-3 Lipid 12-HEPE from Brown Fat. **Cell Metabolism**, v. 30, n. 4, p. 768-783, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.001>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LEITE, J. P. O efeito do treinamento físico sobre a resistência à insulina em animais tratados com dieta hiperlipídica: modulações de fatores inflamatórios sobre o tecido adiposo branco e marrom de ratos Wistar. 2014. 113 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/312926>>. Acesso em: 25 ago. 2018.

LOPES, H. F. et al. Visceral adiposity syndrome. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 19, n. 8, p. 40, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13098-016-0156-2>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LUIJTEN, I. H. N. et al. In the absence of UCP1-mediated diet-induced thermogenesis, obesity is augmented even in the obesity-resistant 129S mouse strain. **American Journal of**

**Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 316, n. 5, p. 729-740, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00020.2019>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

LYNES, M. D. et al. The cold-induced lipokine 12,13-diHOME promotes fatty acid transport into brown adipose tissue. **Nature Medicine**, v. 23, n. 5, p. 631-637, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nm.4297>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MANABE, Y. et al. Exercise training-induced adaptations associated with increases in skeletal muscle glycogen content. **FEBS Journal**, v. 280, n. 3, p. 916-926, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/febs.12085>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MAY, F. J. et al. Lipidomic Adaptations in White and Brown Adipose Tissue in Response to Exercise Demonstrate Molecular Species-Specific Remodeling. **Cell Reports**, v. 18, n. 6, p. 1558-1572, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.01.038>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MCKIE, G. L. et al. Housing temperature affects the acute and chronic metabolic adaptations to exercise in mice. **Journal of Physiology**, v. 597, n. 17, p. 4581-4600, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1113/jp278221>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MCKIE, G. L.; WRIGHT, D. C. Biochemical adaptations in white adipose tissue following aerobic exercise: From mitochondrial biogenesis to browning. **Biochemical Journal**, v. 477, n. 6, p. 1061-1081, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1042/bcj20190466>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MIHALOPOULOS, N. L. et al. Cold-Activated Brown Adipose Tissue is Associated with Less Cardiometabolic Dysfunction in Young Adults with Obesity. **Obesity**, v. 28, n. 5, p. 916-923, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/oby.22767>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MORRISON, S. F.; MADDEN, C. J.; TUPONE, D. Central control of brown adipose tissue thermogenesis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 3, n. 5, p. 5 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00005>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MUÑOZ, V. R. et al. Exercise decreases CLK2 in the liver of obese mice and prevents hepatic fat accumulation. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 7, p. 5885-5892, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jcb.26780>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MURANO, I. et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. **Journal of Lipid Research**, v. 49, n. 7, p. 1562-1568, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1194/jlr.m800019-jlr200>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

NEDERGAARD, J.; CANNON, B. Brown adipose tissue as a heat-producing thermoeffector. 1. ed. [s.l.] **Elsevier B.V.**, 2018. v. 156

NGUYEN, N. T.; VARELA, J. E. Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: State of the art. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 3, p. 160-169, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.170>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

OGURI, Y.; KAJIMURA, S. Cellular heterogeneity in brown adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 1, p. 65-67, 2020. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1172/jci133786>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

OH-ISHI, S. et al. Swimming training improves brown-adipose-tissue activity in young and old mice. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 89, n. 2, p. 67-78, 1996. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0047-6374\(96\)01727-7](https://doi.org/10.1016/0047-6374(96)01727-7)>. Acesso em: 30 jun. 2020.

OISHI, J. C. et al. Endothelial dysfunction and inflammation precedes elevations in blood pressure induced by a high-fat diet [Disfunção endotelial e inflamação precedem a elevação da pressão arterial induzida por dieta hiperlipídica]. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 6, p. 558-567, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/abc.20180086>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

OMRAN, F.; CHRISTIAN, M. Inflammatory Signaling and Brown Fat Activity. **Frontiers in Endocrinology**, v. 24, n. 11, p. 156, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00156>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PAHLAVANI, M. et al. Adipose tissue inflammation in insulin resistance: Review of mechanisms mediating anti-inflammatory effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Investigative Medicine**, v. 65, n. 7, p. 1021–1027, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/jim-2017-000535>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PARK, A. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. **World Journal of Stem Cells**, v. 6, n. 1, p. 33-42, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i1.33>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PARLEE, S. D. et al. Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue. In: *Methods in enzymology*. Academic Press, 2014. p. 93-122. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-411619-1.00006-9>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PEDERSEN, B. K.; SALTIN, B. Exercise as medicine - Evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 25, n. 3, p. 1-72, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/sms.12581>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PEREIRA, M. P. et al., A low-protein, high-carbohydrate dieta increases browning in perirenal adipose tissue but not in inguinal adipose tissue. **Nutrition**, v. 42, p. 37-45, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.05.007>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PEREIRA, R. M. et al. Short-term strength training reduces gluconeogenesis and NAFLD in obese mice. **Journal of Endocrinology**, v. 241, n. 1, p. 59-70, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1530/joe-18-0567>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PERES VALGAS DA SILVA, C. et al. Cold and Exercise: Therapeutic Tools to Activate Brown Adipose Tissue and Combat Obesity. **Biology**, v. 8, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/biology8010009>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

PINCKARD, K.; BASKIN, K. K.; STANFORD, K. I. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 4, n. 6, p.69, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00069>>. Acesso em: 30 jun. 2020.



QUAIL, D. F.; DANNENBERG, A. J. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 3, p. 139-154, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41574-018-0126-x>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

RAVAGNANI, F. C. DE P. et al. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n. 3, p. 190-194, 2012.

ROCHA-RODRIGUES, S. et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. **Life Sciences**, v. 165, p. 100-108, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.023>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ROCHA-RODRIGUES, S. et al. Physical exercise remodels visceral adipose tissue and mitochondrial lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 44, n. 3, p. 386-394, 2017a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1440-1681.12706>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ROCHA-RODRIGUES, S. et al. Impact of physical exercise on visceral adipose tissue fatty acid profile and inflammation in response to a high-fat diet regimen. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 87, p. 114-124, 2017b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2017.04.008>>. Acesso em 30 jun. 2020.

ROCHA, G. L. D. et al. Effect of high intensity interval and continuous swimming training on body mass adiposity level and serum parameters in high-fat diet fed rats. **Scientific World Journal**, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2016/2194120>>. Acesso em 30 jun. 2020.

RODRÍGUEZ, A. et al. Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 309, n. 8, p. E691–E714, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00297.2015>>. Acesso em 30 jun. 2020.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. What we talk about when we talk about fat. **Cell**, v. 156, n. 1–2, p. 20–44, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ROSENKILDE, M. et al. Body fat loss and compensatory mechanisms in response to different doses of aerobic exercise—a randomized controlled trial in overweight sedentary males. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 303, n. 6, p. 571-579, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00141.2012>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ROSS, R.; SONI, S.; HOULE, S. A. Negative energy balance induced by exercise or diet: Effects on visceral adipose tissue and liver fat. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 891, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/nu12040891>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Nature**, v. 281, n. 5726, p. 31-35, 1979. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/281031a0>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

RUIZ, J. R. et al. Regulation of energy balance by brown adipose tissue: At least three potential roles for physical activity. **British Journal of Sports Medicine**, v. 49, n. 15, p. 972-973, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-094537>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SAITO, M. et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: Effects of cold exposure and adiposity. **Diabetes**, v. 49, n. 15, p. 972-973, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-094537>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SAKAMOTO, T. et al. Macrophage infiltration into obese adipose tissues suppresses the induction of UCP1 level in mice. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 310, n. 8, p. 676-687, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00028.2015>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SANCHEZ-DELGADO, G. et al. Role of exercise in the activation of brown adipose tissue. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 67, n. 1, p. 21-32, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1159/000437173>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SÁNCHEZ-DELGADO, G. Brown adipose tissue and exercise: implications on human energy balance and metabolism. The Actibate study. 21 nov. 2018.

SAÚDE, M. DA. Vigitel Brasil 2018: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquerito telefônico. **Estatística e Informação em Saúde**, 2019. Disponível em: <<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/27/vigitel-brasil-2019-vigilancia-fatores-risco.pdf>> Acesso em: 29. jun, 2020.

SCHEIDELER, M.; HERZIG, S.; GEORGIADI, A. Endocrine and autocrine/paracrine modulators of brown adipose tissue mass and activity as novel therapeutic strategies against obesity and type 2 diabetes. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 31, n. 2, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/hmbci-2017-0043>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.08.019>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SEALE, P.; LAZAR, M. A. Brown fat in humans: turning up heat on obesity. **Diabetes**, v.58, n. 7, p. 1482-1484, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/db09-0622>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SEGAWA, M. et al. Effect of running training on brown adipose tissue activity in rats: A reevaluation. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, v. 100, n. 1, p. 77-82, 1998.

SENE-FIORESE, M. et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. **Obesity**, v. 16, n. 10, p. 2217-2222, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/oby.2008.339>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SHARP, L. Z. et al. Human BAT Possesses Molecular Signatures That Resemble Beige/Brite Cells. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, p. 49452, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049452>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SHI, F.; COLLINS, S. Second messenger signaling mechanisms of the brown adipocyte thermogenic program: An integrative perspective. **Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation**, v. 31, n. 2, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/hmbci-2017-0062>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SIDOSSIS, L.; KAJIMURA, S. Brown and beige fat in humans: Thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 2, p.478-486, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci78362>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SILVERMAN, H. G.; MAZZEO, R. S. Hormonal responses to maximal and submaximal exercise in trained and untrained men of various ages. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 51, n. 1, p. 830-837, 1996. Disponível em: ><https://doi.org/10.1093/gerona/51a.1.b30>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SMITH, G. I.; MITTENDORFER, B.; KLEIN, S. Metabolically healthy obesity: Facts and fantasies. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 3978-3989, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci129186>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SMITH, R. L. et al. Metabolic flexibility as an adaptation to energy resources and requirements in health and disease. **Endocrine Reviews**, v. 39,n. 4, p. 489-517, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1210/er.2017-00211>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SONG, A. et al. Low- And high-thermogenic brown adipocyte subpopulations coexist in murine adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 1, p. 247-257, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci129167>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SPEAKMAN, J. R. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. **International Journal of Obesity**, v. 43, n. 8, p. 1491-1492, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41366-019-0363-7>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SPERETTA, G. F. F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**, v. 67, n. 12, p. 1469-1477, 2012. Disponível em: <[https://doi.org/10.6061/clinics/2012\(12\)19](https://doi.org/10.6061/clinics/2012(12)19)>. Acesso em: 30 jun. 2020.

STANFORD, K. I. et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 1, p. 215-223, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci62308>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

STANFORD, K. I. et al. A novel role for subcutaneous adipose tissue in exercise-induced improvements in glucose homeostasis. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 2002-2014, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/db14-0704>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

STANFORD, K. I. et al. 12,13-diHOME: An Exercise-Induced Lipokine that Increases Skeletal Muscle Fatty Acid Uptake. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 5, p. 1111-1120, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.020>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

STANFORD, K. I.; GOODYEAR, L. J. Exercise regulation of adipose tissue. **Adipocyte**, v. 5, n. 2, p. 153-162, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/21623945.2016.1191307>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

STANFORD, K. I.; MIDDELBEEK, R. J. W.; GOODYEAR, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: Being and metabolic adaptations. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2361-2368, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/db15-0227>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

SYMONDS, M. E. **Adipose tissue biology**. 2017.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389-398, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/geno.1996.0302>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TENG, K. T. et al. Modulation of obesity-induced inflammation by dietary fats: Mechanisms and clinical evidence. **Nutrition Journal**, v. 29, n. 13, p. 12, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-12>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TOWNSEND, K. L.; TSENG, Y. H. Brown fat fuel utilization and thermogenesis. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 25, n. 4, p. 168-177, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.12.004>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TOWNSEND, L. K.; KNUTH, C. M.; WRIGHT, D. C. Cycling our way to fit fat. **Physiological Reports**, v. 5, n. 7, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.14814/phy2.13247>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TRAYHURN, P.; THURLBY, P. L.; JAMES, W. P. T. Thermogenic defect in pre-obese ob/ob mice. **Nature**, v. 266, p. 5597, p. 60-62, 1977. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/266060a0>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TRINCHESE, G. et al. Decreased Metabolic Flexibility in Skeletal Muscle of Rat Fed with a High-Fat Diet Is Recovered by Individual CLA Isomer Supplementation via Converging Protective Mechanisms. **Cells**, v. 9, n. 4, p. 823, 29 mar. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cells9040823>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VAN MARKEN LICHTENBELT, W. D. et al. Cold-Activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1500-1508, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmoa0808718>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VELICKOVIC, K. et al. Caffeine exposure induces browning features in adipose tissue in vitro and in vivo. **Scientific Reports**, V. 9, N. 1, P. 9104, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-45540-1>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VERHEGGEN, R. J. H. M. et al. A systematic review and meta-analysis on the effects of exercise training versus hypocaloric diet: distinct effects on body weight and visceral adipose tissue. **Obesity Reviews**, v. 17, n. 8, p. 664-690, 2016. Disponível em: 30 jun. 2020.

VETTOR, R.; CONCI, S. Obesity Pathogenesis. In: [Obesity, Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment]. 2019, p. 89-108.

VIDAL, P.; STANFORD, K. I. Exercise-Induced Adaptations to Adipose Tissue Thermogenesis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 29, n. 11, p. 270, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00270>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VILLARROYA, F. et al. Brown adipose tissue as a secretory organ. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 1, p. 26-35, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.136>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VILLARROYA, F. et al. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. **Journal of Internal Medicine**, v. 284, n. 5, p. 492-504, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/joim.12803>>. Acesso em 30 jun. 2020.

VILLARROYA, F.; PEYROU, M.; GIRALT, M. Transcriptional regulation of the uncoupling protein-1 gene. **Biochimie**, v. 134, p. 86-92, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.09.017>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VILLARROYA, F.; VIDAL-PUIG, A. Beyond the sympathetic tone: The new brown fat activators. **Cell Metabolism**, v. 17, n. 5, p. 638-643, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.02.020>>

VIRTANEN, K. A. et al. Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1518-1525, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmoa0808949>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

VON ESSEN, G. et al. Adaptive facultative diet-induced thermogenesis in wild-type but not in UCP1-ablated mice. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 313, n. 5, p. 515-527, 2017. Disponível em: 30 jun. 2020.

WAISE, T. M. Z. et al. One-day high-fat diet induces inflammation in the nodose ganglion and hypothalamus of mice. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 464, n. 4, p. 1157-1162, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.07.097>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WATANABE, M. et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. **Nature**, v. 439, n. 7075, p. 484-489, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature04330>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WEDELL-NEERGAARD, A. S. et al. Exercise-Induced Changes in Visceral Adipose Tissue Mass Are Regulated by IL-6 Signaling: A Randomized Controlled Trial. **Cell Metabolism**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.12.007>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WHITE, J. D.; DEWAL, R. S.; STANFORD, K. I. The beneficial effects of brown adipose tissue transplantation. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 68, p. 74-81, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.06.004>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WHITTLE, A. J. et al. BMP8B increases brown adipose tissue thermogenesis through both central and peripheral actions. **Cell**, v. 149, n. 4, p. 871-885, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.066>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WHO. **Obesity and overweight: Fact sheet 2016**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acessado em. 21 nov. 2019.

WIEDEMANN, M. S. F. et al. Adipose tissue inflammation contributes to short-term high-fat diet-induced hepatic insulin resistance. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 305, n. 3, p. 388-395, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00179.2013>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WOODS, J. A. et al. Exercise, inflammation and aging. **Aging and Disease**, v. 3, n. 1, p. 130-140, 2012.

YANG, M. IL-6: A hack to body fat and exercise? **Science Translational Medicine**, v. 11, n. 476, p. 5316, 2019. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaw5316

YONESHIRO, T. et al. Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 8, p. 3404-3408, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1172/jci67803>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

YONESHIRO, T. et al. BCAA catabolism in brown fat controls energy homeostasis through SLC25A44. **Nature**, v. 573, n. 7771, p. 614-619, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1503-x>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ZABIELSKI, P. et al. The effect of high fat diet and metformin treatment on liver lipids accumulation and their impact on insulin action. **Scientific Reports**, v. 8, n.1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25397-6>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

ZIEGLER, A. K. et al. An anti-inflammatory phenotype in visceral adipose tissue of old lean mice, augmented by exercise. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48587-2>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

## ANEXO

Pró Reitoria  
de Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de São Carlos



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFETOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NA EXPRESSÃO DE IRF-4 NO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS WISTAR ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA", protocolada sob o CEUA nº 3161311018 (ID 001081), sob a responsabilidade de **Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte** e equipe: João Manoel Alves - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 26/11/2018.

We certify that the proposal "EFFECTS OF AEROBIC PHYSICAL TRAINING ON THE EXPRESSION OF IRF-4 IN ADIPOSE TISSUE OF WISTAR RATS FED WITH HYPERLIPIDIC DIET", utilizing 28 Heterogenics rats (28 males), protocol number CEUA 3161311018 (ID 001081), under the responsibility of **Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte** and team: João Manoel Alves - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 11/26/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 01/2019 a 06/2019

Área: **Educação Física E Motricidade Humana**

Origem: **Biotério Central da UFSCAR**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **45 a 60 dias**

N: **28**

Linhagem: **Rattus norvegicus/ Wistar**

Peso: **180 a 200 g**

Local do experimento: **Laboratório de Nutrição e Metabolismo aplicado ao Exercício**

São Carlos, 04 de setembro de 2019

Prof. Dra. Luciana Thie Seki Dias  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho  
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de São Carlos