



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - UFSCAR/UNESP

**EFEITOS DA DIETA DE BAIXO TEOR DE CARBOIDRATOS E ALTO TEOR
DE GORDURA ASSOCIADA OU NÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO
SOBRE O REMODELAMENTO DA MATRIZ EXTRACELULAR E FIBROSE
DO VENTRÍCULO CARDÍACO ESQUERDO DE RATOS.**

Bianca Caruso Moreira

São Carlos

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA
SAÚDE



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - UFSCAR/UNESP

**EFEITOS DA DIETA DE BAIXO TEOR DE CARBOIDRATOS E ALTO TEOR
DE GORDURA ASSOCIADA OU NÃO AO TREINAMENTO RESISTIDO
SOBRE O REMODELAMENTO DA MATRIZ EXTRACELULAR E FIBROSE
DO VENTRÍCULO CARDÍACO ESQUERDO DE RATOS.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação
em Ciências Fisiológicas da Universidade
Federal de São Carlos, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Ciências Fisiológicas.

Mestranda: Bianca Caruso Moreira

Orientadora: Prof^ª. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo

Coorientadora: Dra. Uliana Sbeguen Stotzer

São Carlos

2021



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 da candidata Bianca Caruso Moreira, realizada em 20/12/2021.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo (UFSCar)

Prof. Dr. Wladimir Rafael Beck (UFSCar)

Profa. Dra. Mônica Rosas da Costa Iemma (UNIARA)

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.

“Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas.”

Marie Curie

Agradecimentos

Gostaria de fazer um agradecimento pomposo como vejo em muitos lugares. No entanto, nunca fui boa em expressar meus sentimentos com palavras, mas acredito que a sinceridade e gratidão também se apresentem na forma de palavras simples e gestos diários.

Então, gostaria de agradecer e dedicar esta dissertação às seguintes pessoas:

Minha família, que é e sempre foi meu aconchego, porto seguro e o que me move a sempre ser uma pessoa melhor. (Minha mãe Marcia, pai Cleiton, irmãos Nathan e Sofia, avó Neide.)

Ao meu namorado Vitor, que me aguentou fortemente neste processo (você mais do que ninguém sabe como foi e agradeço todos os dias por estar ao meu lado!). Gostaria de agradecer a sua/também minha família, que gastaram várias velas em orações. (Marcia, Altair e Vó).

Aos amigos da Federal e Laboratório, que conheci durante este período e que contribuíram em muito para meu conhecimento e crescimento (mesmo com pequenas palavras de gentileza e apoio). Seria impossível listar todos aqui, mas acredito que saibam o quanto sou grata (como disse, gestos diários!).

Agradeço à minha orientadora professora Dra. Heloisa e minha coorientadora a Dra. Uliana, por acreditarem em mim e terem tornado esse mestrado possível.

Sou grata também aos professores e laboratórios colaboradores, por todo o conhecimento, tempo e apoio transmitido.

Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - processos 429235/2018-6 e 306225/2017-4, e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - processo #2019/17737-2, por todo o financiamento deste projeto.

A todos vocês, a minha profunda GRATIDÃO!

Lista de abreviações e siglas

LCHF	Low carb/high fat
TR	Treino resistido
CONT	Controle
CONT-S	Controle-Sedentário
CONT-TR	Controle-Treinado
LCHF-S	Low carb/high fat- Sedentário
LCHF-TR	Low carb/high fat- Treinado
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monócitos
CTGF	Fator de crescimento do tecido conjuntivo
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta
MMP	Metaloproteinases de matriz
TIMP	Inibidores teciduais de metaloproteinases
COL	Colágeno
IL	Interleucina
OMS	Organização mundial da saúde
MECC	Matriz extracelular cardíaca
HE	Hematoxilina-eosina

SUMÁRIO

Sumário	7
1 Introdução	3
2 Métodos	6
2.1 Animais	6
2.2 Delineamento Experimental	7
2.3 Eutanásia e armazenamento de amostras	7
2.4 Dieta	8
2.5 Treinamento Resistido	8
2.5.1 Familiarização	8
2.5.2 Determinação da Carga de Treinamento	9
2.5.3 Protocolo de Treinamento	10
2.6 Análises Histológicas	10
2.7 Zimografia	11
2.8 qRT-PCR	12
2.9 Elisa	13
2.10 Análise Estatística	13
3 RESULTADOS	14
3.1 Análise de Zimografia	14
3.2 Hipertrofia cardíaca	15
3.3 Fibrose cardíaca	16
3.4 qRT-PCR	18
3.4.1 Genes Pró-Inflamatórios	18
3.4.2 Genes da Matriz extracelular	19
3.4.3 Genes indicativos de Fibrose	20
3.5 Elisa	20
3.5.1 IL-10	20
4 DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	28
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMO

INTRODUÇÃO: O aumento do risco cardiovascular está associado a fatores extrínsecos como hábitos alimentares e nível de atividade física. Por sua vez, esses fatores podem afetar o equilíbrio de fatores intrínsecos, como os mecanismos relacionados com o processo inflamatório e fibrose cardíaca. Apesar da interação entre esses mecanismos intrínsecos e extrínsecos terem sido amplamente estudados, pouco se sabe sobre o efeito da dieta low carb/high fat (LCHF) e treinamento resistido (TR), quando realizados em longo prazo, no risco cardiovascular. **OBJETIVO:** Verificar os efeitos em longo prazo da dieta LCHF, associada ou não ao TR, na inflamação crônica, remodelamento, fibrose e hipertrofia do ventrículo esquerdo. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Trinta e seis ratos machos Sprague Dawley foram submetidos a 21 semanas de dieta controle ou LCHF e distribuídos de forma aleatória nos grupos: i) dieta Controle-Sedentário (CONT-S n=9); ii) dieta Controle-Treinado (CONT-TR n=9); iii) dieta LCHF-Sedentário (LCHF-S n=9) e; iv) dieta LCHF-Treinado (LCHF-TR n=11). Os grupos treinados realizaram três sessões de treinamento por semana (4 a 9 escaladas com progressão de carga), com intervalos de 48 horas entre as sessões. As análises realizadas foram, qRT-PCR (TNF- α , Osteopontina, MCP-1, CTGF, TGF- β , MMP-2, TIMP-1 e 2, COL-1), Elisa (IL-10), zimografia (MMP-2 e 9), avaliação do conteúdo de fibras colágenas (coloração de picrossirius), hipertrofia de cardiomiócitos (coloração hematoxilina-eosina), peso do coração e ventrículo esquerdo. **RESULTADOS:** Não foram observadas diferenças entre todos os grupos para as análises de MMP, IL-10, hipertrofia de cardiomiócitos, deposição de fibras colágenas, peso do coração e do ventrículo esquerdo e expressão dos genes TNF- α e CTGF. A expressão dos genes TGF- β , Osteopontina, TIMP-1 e 2, e COL-1 foram menores para os grupos que realizaram uma dieta LCHF quando comparados aos grupos CONT. Apenas o gene MCP-1 apresentou maior expressão para os grupos LCHF. Não foram observados efeitos significativos do TR nas análises. **CONCLUSÃO:** Sugerimos que a dieta LCHF parece não promover efeitos adversos na saúde do coração independentemente da associação com o TR, ao menos para os modelos de dieta e TR utilizados por nós ao longo do período investigado.

Palavras chave: coração, matriz extracelular, dieta, treinamento resistido, fibrose

ABSTRACT

INTRODUCTION: Increases in cardiovascular risk are associated to extrinsic factors such as eating habits and physical activity level, which can affect the balance of intrinsic factors related to inflammatory and cardiac fibrosis mechanisms. Despite the interactions between the intrinsic and extrinsic mechanisms have been widely studied, little is known about the long-term effects low carb/high fat diet (LCHF) and resistance training (RT) in the cardiovascular risk. **AIM:** To investigate the long-term effects of low carb/high fat diet, associated or not to RT, in chronic inflammation, cardiac remodeling, fibrosis and cardiac left ventricle hypertrophy. **MATERIAL AND METHODS:** Thirty-six male Sprague Dawley rats were submitted to 21 weeks of standard diet or LCHF diet and, randomly assigned in four groups: i) Control Diet-Sedentary (CONT-S n=9); ii) Control Diet-Trained (CONT-TR n=9); iii) LCHF Diet-Sedentary (LCHF-S n=9) e; iv) LCHF Diet-Trained (LCHF-TR n=11). The two training groups performed 3 training sessions weekly (4-9 climbs with load progression), 48 hours apart. We performed qRT-PCR (TNF- α , Osteopontin, MCP-1, CTGF, TGF- β , MMP-2, TIMP-1 and 2, COL-1), Elisa (IL-10), zymography (MMP-2 and 9), collagen fiber content (picosirius stain), cardiomyocyte hypertrophy (hematoxylin-eosin stain), heart and left ventricular weight. **RESULTS:** No differences between all groups were found for MMP activity and IL-10, cardiomyocyte hypertrophy, collagen fiber content, heart and left ventricle weight and gene expression of TNF- α and CTGF. Gene expression of TGF- β , Osteopontina, TIMP-1 and 2, and COL-1 were lower for the LCHF-Diet groups compared to CONT-Diet groups. Only the expression of MCP-1 was greater for the LCHF-Diet groups compared to CONT-Diet groups. No significant effects were observed for RT. **CONCLUSION:** We suggest that LCHF diet seems not to promote adverse effects on heart health regardless RT practice, at least for the diet, RT mode and time used herein.

Keywords: heart, matrix extracellular, diet, resistance training, fibrosis

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares afetam milhões de pessoas sendo a primeira causa de morte em todo o mundo segundo a Organização Mundial da Saúde ([OMS], 2020). O aumento do risco cardiovascular está associado a diversos fatores ambientais (e.g., hábitos alimentares e nível de atividade física) e seus efeitos nos mecanismos biológicos intrínsecos (e.g., desequilíbrios entre concentrações de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias). Além disso, o efeito combinado de diferentes fatores ambientais como a atividade física e dieta na saúde cardiovascular parece ser maior quando comparado a cada um dos fatores isoladamente (JOHNS *et al.*, 2014; VERONESE *et al.*, 2016; ELLIOT e HAMLIN, 2018). Nesse sentido, estudos que investiguem os efeitos e interações desses fatores nos mecanismos biológicos intrínsecos envolvidos na manutenção e/ou aumento da saúde cardiovascular são essenciais.

O coração é formado por componentes celulares e não celulares organizados em uma rede tridimensional chamada matriz extracelular cardíaca (MECC)(VALIENTE-ALANDI *et al.*, 2016). A MECC é estruturalmente composta principalmente pelos colágenos do tipo fibrilar I e III (MIENALTOWSKI e BIRK, 2014; VALIENTE-ALANDI *et al.*, 2016; WITTIG e SZULCEK, 2021). As fibras colágenas estão em constante remodelamento para garantir as funções mecânicas, físicas e bioquímicas fundamentais do coração (KIM *et al.*, 2011; VALIENTE-ALANDI *et al.*, 2016; WITTIG e SZULCEK, 2021). Contudo, esse remodelamento pode se tornar patológico caso os mecanismos físicos e/ou químicos que o controlem sejam desregulados (KONG *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2018; FRANGOIANNIS, 2019b). Dentre esses mecanismos, disfunções inflamatórias crônicas que desequilibram a produção das citocinas tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1) e Osteopontina tem recebido grande atenção (BARTEKOVA *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2018; FRANGOIANNIS, 2019a; FAN e KASSIRI, 2021; LÓPEZ *et al.*, 2021). Estas

citocinas aumentam os níveis do fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) e do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), estimulando os fibroblastos cardíacos a se transformarem em miofibroblatos (DANIELS *et al.*, 2009; FAN *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2018; FAN e KASSIRI, 2021; LÓPEZ *et al.*, 2021). Em conjunto, esses fatores promovem o desequilíbrio na atividade das metaloproteinases de matriz (MMPs) e dos seus inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), responsáveis por degradar as fibras de colágeno e inibir a atividade das MMPs, respectivamente (TURNER e PORTER, 2012; FAN e KASSIRI, 2021; LÓPEZ *et al.*, 2021). Uma vez que a atividade das MMPs e TIMPs são desreguladas pelo processo inflamatório, ocorre uma deposição excessiva de fibras colágenas tipo I e III nos cardiomiócitos (SIVASUBRAMANIAN *et al.*, 2001; FRANGOIANNIS, 2019a; LÓPEZ *et al.*, 2021). De forma contínua e prolongada esse processo resulta em fibrose cardíaca acompanhada de aumento do tamanho do coração, hipertrofia do ventrículo esquerdo e dos cardiomiócitos, com consequentemente aumento do risco cardiovascular (DANIELS *et al.*, 2009; LAFUSE *et al.*, 2020; LÓPEZ *et al.*, 2021). Embora esses mecanismos tenham sido amplamente estudados, pouco se sabe sobre os efeitos de diferentes fatores extrínsecos e tampouco sobre a interação entre esses fatores nos mecanismos supracitados.

Um dos fatores extrínsecos que mais afetam o risco cardiovascular são os hábitos alimentares. Em especial, as dietas com baixos níveis de carboidratos (~30% da ingesta calórica diária) e altos níveis de gordura (~60% da ingesta calórica diária) (*low carb/high fat* [LCHF]) vem sendo amplamente recomendadas. Embora alguns estudos tenham demonstrado que a dieta LCHF promove rápida perda de peso, diminuição dos perfis inflamatórios e consequentemente do risco cardiovascular (RUTH *et al.*, 2013; TOBIAS *et al.*, 2015; NOAKES e WINDT, 2017), esses resultados não são universais entre os trabalhos que investigaram dietas com alto teor de gordura em humanos (HALTON *et al.*,

2006; FUNG *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2021). É possível que essa divergência ocorra pela dificuldade de se manter esse tipo de dieta por um longo período em humanos. De fato, a própria comunidade científica destaca a possibilidade de variações alimentares ao longo desses estudos (NOTO *et al.*, 2013; ROSS *et al.*, 2021). Portanto, o uso de modelo animal é uma alternativa que permite maior validade interna durante um período de intervenção prolongado. Nesse sentido, ao investigar o efeito de uma dieta com alto teor de gordura (modelo semelhante a dieta LCHF) em ratos, o estudo de WANG *et al.* (2015) demonstrou hipertrofia e fibrose cardíaca após 11 meses com esta alimentação. Outros estudos demonstraram que ratos submetidos a dieta LCHF apresentaram alteração atividade da MMP-2 (LEITE *et al.*, 2013), declínio da contractilidade cardíaca, redução do volume sistólico e débito cardíaco (NILSSON e ERICSSON, 2016). Em conjunto, esses estudos nos permitem especular que a dieta LCHF pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares, apesar desse modelo de dieta ser recomendado para diminuição do risco cardiovascular. Contudo, o protocolo de dieta utilizado por WANG *et al.* (2015) e LEITE *et al.* (2013) não foram o LCHF propriamente dito. Além disso, os estudos que de fato utilizaram a dieta LCHF, não investigaram os efeitos dessa dieta nos mecanismos relacionados ao remodelamento patológico cardíaco e fibrose (NILSSON e ERICSSON, 2016).

Dentre as outras intervenções recomendadas para aumentar a saúde cardiovascular, o treinamento resistido (TR) tem sido amplamente estudado (HASKELL *et al.*, 2007; TIAN e MENG, 2019; ASHTON e TEW, 2020). Estudos demonstraram que a prática regular de TR promove melhora geral na saúde do coração (ASHTON e TEW, 2020; LEKAVICH *et al.*, 2021) e diminui fatores que contribuem para o aumento do risco cardiovascular como a adiposidade corporal (RAMOS-CAMPO *et al.*, 2021) e o perfil inflamatório (MARTINS *et al.*, 2018; SARDELI *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018;

KOLAHDOUZI *et al.*, 2019). Adicionalmente, estudos demonstraram que o TR é eficaz em normalizar a atividade das MMP-2 e 9 e também reduzir a deposição de colágeno na MECC de ratos idosos (GUZZONI *et al.*, 2017) ou submetidos a dieta LCHF (LEITE *et al.*, 2013). Embora essas evidências nos permitam sugerir que o TR é um método capaz de melhorar a saúde cardiovascular, ainda não se sabe qual o efeito dessa intervenção na fibrose cardíaca quando associada a outra intervenção, como a dieta LCHF em longo prazo. Desse modo, nosso objetivo é investigar os efeitos em longo prazo da dieta LCHF, associada ou não ao TR, na inflamação crônica, remodelamento e fibrose do ventrículo esquerdo cardíaco de ratos machos.

Nossa hipótese é de que independentemente da associação com o TR, a dieta LCHF em longo prazo promoverá: 1) aumento dos marcadores de inflamação crônica; 2) desbalanço das MMPs e TIMPs e; 3) aumento na deposição de colágeno na MECC resultando em fibrose do ventrículo esquerdo de ratos. Se a nossa hipótese for confirmada, demonstraremos que a dieta LCHF não é benéfica ao coração, mesmo quando associada ao TR.

2 MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 36 ratos *Sprague Dawley*, com 28 dias de idade, provenientes do Biotério central da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp). Todos os procedimentos realizados com os animais foram conduzidos de acordo com as Normas Nacionais de Ética na Experimentação Animal descritos por SILVA *et al.* (2016) e foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Carlos (processo: 2932120515). Os procedimentos foram realizados com todos os cuidados necessários para diminuir ao máximo o sofrimento dos animais.

2.2 Delineamento Experimental

Inicialmente, os animais foram mantidos em biotério com temperatura entre 22 e 24°C e luz com ciclo invertido claro-escuro de 12 horas pelo período de 7 dias para aclimação. Durante esse período, todos os animais receberam uma dieta padrão. Ao final dos 7 dias de aclimação, os animais foram randomizados nos grupos: dieta pobre em carboidrato e rica em gordura (LCHF; n=18) ou dieta controle (CONT; n=18). A água e a comida foram administradas *ad libitum*. Após 10 semanas o grupo LCHF foi subdividido em LCHF sedentário (LCHF-S; n=9) e LCHF mais treinamento resistido (LCHF-TR; n=9) enquanto o grupo CONT foi subdividido em CONT sedentário (CONT-S; n=9) e CONT mais treinamento resistido (CONT-TR; n=9). Antes do início do programa de TR, os animais dos grupos LCHF-TR e CONT-TR realizaram um teste para a determinação da carga de treinamento. Então, os grupos LCHF-TR e CONT-TR foram submetidos a 10 semanas de TR enquanto os grupos LCHF-S e CONT-S permaneceram sedentários. Ao término das 10 semanas, os animais dos quatro grupos foram eutanasiados.

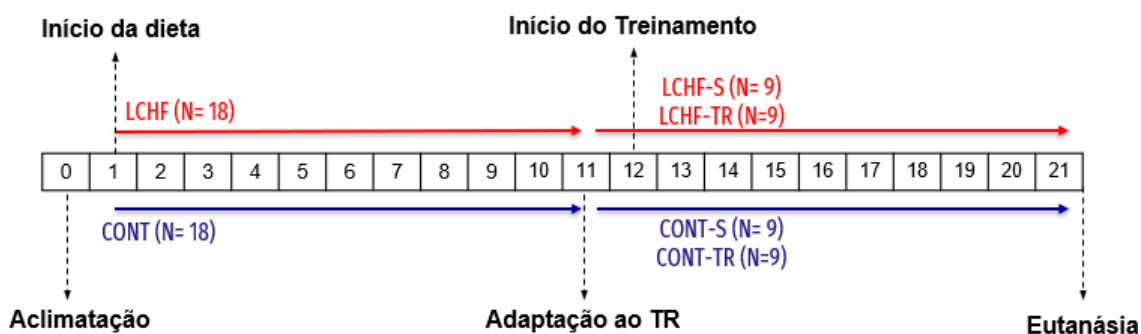


Figura 1. Procedimento realizados ao longo das semanas.

2.3 Eutanásia e armazenamento de amostras

Para a eutanásia os animais permaneceram em jejum por 5 horas durante a noite e foram sacrificados na manhã seguinte por decapitação por guilhotina. Para os grupos TR, o

procedimento ocorreu 48 horas após o término da última sessão de treino. Imediatamente após a eutanásia, as amostras de sangue foram coletadas e processadas, assim como o ventrículo esquerdo do coração foi removido, pesado e dissecado (Figura 2) e armazenado a -80°C para as análises posteriores.

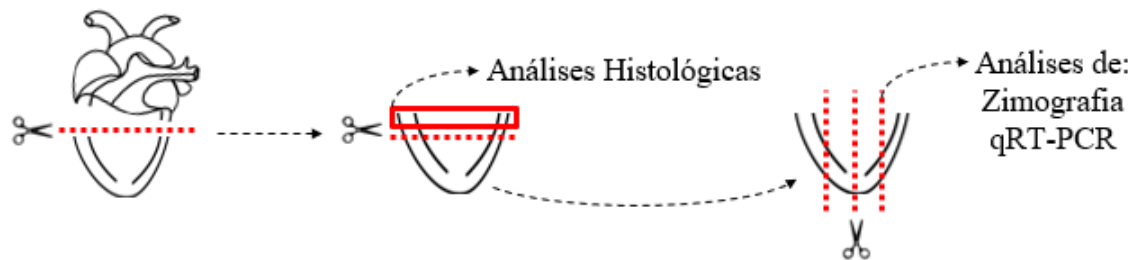


Figura 2. Procedimento realizados para estocagem de amostras.

2.4 Dieta

A dieta controle utilizada foi a AIN-93M (10% de gordura, 15% de proteína e 75% de carboidrato) enquanto a dieta LCHF foi a AIN-93M modificada (60% de gordura, 10% de proteína e 30% de carboidrato). Com relação ao valor calórico total, as dietas controle e LCHF continham 3,85Kcal/g e 5,410Kcal/g de energia, respectivamente. Ambas as dietas foram adquiridas pela Prag Soluções Comércio e Serviços Ltda (Jaú, SP - Brasil). A ingestão alimentar foi monitorada três vezes por semana.

2.5 Treinamento Resistido

2.5.1 Familiarização

Inicialmente, os animais foram posicionados na parte inferior de uma escada com 1,10m de altura por 0,18m de largura, espaçamento de 2cm entre os degraus e com 80° de inclinação. A escada utilizada para a familiarização dos animais foi a mesma utilizada posteriormente para o teste de força máxima e realização dos protocolos de treinamento.

Para estimular os animais a escalam a escada, foi realizado um estímulo “tipo pinça” no início da cauda. Esse procedimento foi realizado até que os animais subissem a escada 3 vezes consecutivas sem o estímulo de pinça na cauda. O processo de familiarização foi realizado pelo período de uma semana, nos mesmos dias da semana em que as sessões de treinamento aconteceriam.

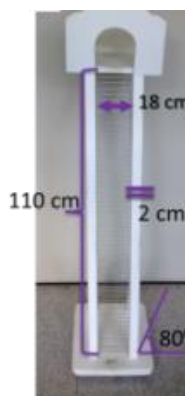


Figura 3. Escada utilizada para familiarização, teste de força máxima e protocolo de treinamento.

2.5.2 Determinação da Carga de Treinamento

O teste de carga máxima consistiu na realização de escaladas com sobrecargas progressivas adicionadas a cauda. Na primeira escalada foi utilizada uma sobrecarga correspondente a 75% da massa corporal do rato. A cada escalada realizada com sucesso foram adicionados 30 gramas para a próxima tentativa até que o animal não conseguisse escalar toda a escada. A maior sobrecarga carregada com sucesso foi considerada sua carga máxima. O número de escaladas até a obtenção da carga máxima dos animais foi entre 4 e 8 tentativas.



Figura 4. Aparatos de sobrecarga.

2.5.3 Protocolo de Treinamento

As sessões de treinamento foram compostas por 4 a 9 escaladas, nas quais os animais conseguiram subir de 8 a 12 degraus por escalada. As primeiras quatro escaladas foram realizadas com 65%, 85%, 95% e 100% de carga máxima de cada animal. Nas escaladas subsequentes foram adicionados 30 gramas até que o animal não conseguisse completar a escalada ou até que tivesse completado 9 escaladas. O intervalo de recuperação entre as escaladas foi de 2 minutos. Foram realizadas 3 sessões de treinamento semanais com intervalo mínimo de 48 horas entre as sessões.

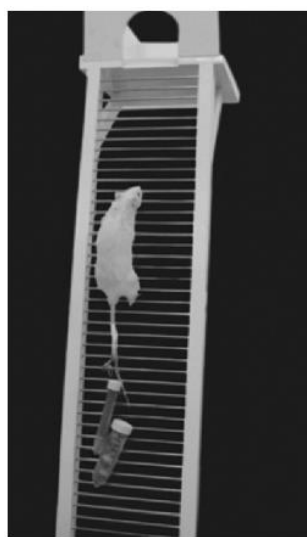


Figura 5. Modelo experimental do protocolo de treinamento resistido (RODRIGUES *et al.*, 2017).

2.6 Análises Histológicas

Os tecidos do ventrículo esquerdo foram embebidos em paraplast e cortados em micrótomo com espessura de 5 μ m. Os cortes foram montados em lâminas de vidro e mantidos em forno seco a 60°C overnight para adesão do corte na lâmina. Para as colorações e análises de histoquímica, os cortes foram desparafinizados e hidratados em uma bateria de xilol, álcool e água. Para cada uma das amostras duas lâminas foram preparadas, de modo que uma foi corada com hematoxilina-eosina (HE) e a outra com Picrosirius. As lâminas coradas com HE e Picrosirius foram digitalizadas e transformadas

em imagem a partir do escâner de lâminas (Pannoramic Digital Slide Scanners system, 3D HISTECH, Ltd.). Os campos a serem analisados foram selecionados através do software do mesmo fabricante em um aumento de 40X, nas regiões 0, 3, 6 e 9 horas. As amostras de tecido coradas com HE foram utilizadas para avaliar a hipertrofia de cardiomiócitos. Para isso, o diâmetro de 100 cardiomiócitos foi analisado por meio da função “reta” do software ImageJ (National Institutes of Health), onde uma linha foi traçada na altura do núcleo, perpendicular ao eixo da fibra. As amostras coradas com Picrosirius foram utilizadas para a quantificação de fibras de colágeno. Foram analisadas oito imagens por animal pelo método de contagem de pontos. Uma grade com 512 cruzamentos foi aplicada nas imagens usando o software ImageJ (National Institutes of Health). Com o mesmo software, a função “multiponto” foi utilizada para contar todos os pontos que se sobrepuseram às fibras de colágeno.

2.7 Zimografia

A técnica de zimografia foi utilizada para mensurar a atividade das Pró-MMP-2, MMP-2 intermediária e MMP-2 Ativa e MMP-9 conforme descrito por CLEUTJENS *et al.* (1995). Em um tubo de 2 ml, fragmentos de ventrículo esquerdo com peso aproximado de 20 mg foram adicionados em tampão de extração (ácido cacodílico 10mM – pH 5/ NaCl₂ 0,15M / ZnCl₂ 10mM/ CaCl₂ 20mM/ NaN₃ 1,5mM/ Triton X-100- 0,01%). As amostras permaneceram sob agitação magnética em câmara fria por 24 horas. Em seguida, foram centrifugadas por 20 minutos a 1400RCF rcf, em temperatura de 4°C (Eppendorf® Centrifuge 5430/5430R, Germany). O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e a quantificação de proteína total foi realizada pelo método de Lowry's. As amostras juntamente com tampão de amostra foram aplicadas em géis de poliacrilamida com SDS e gelatina para subsequente realização de eletroforese. Durante as fases de

empilhamento e separação, a corrida foi feita a 85V e 100V, respectivamente. Ao termino da eletroforese os géis receberam 2 lavagens de 20 minutos em Triton X-100; 2,5%. Os géis foram incubados por 20 horas a 37°C em tampão de incubação (Tris 50mM/ CaCl₂ 5mM – pH 8 / N₂N₃ 0,02% / ZnCl₂ 10mM). Em seguida, foram corados com solução corante (Brilhante Blue 0,25% / Isopropanol 50% / Ácido Acético 10%) e descorados com solução descorante (Metanol 10% / Ácido Acético 10%/ Água Miliq 80%). Os géis foram fototodocumentados no equipamento Molecular Imager[®] ChemiDoc[™]XRS+ Image Sydtem (Bio-Rad). A análise densitométrica das bandas foi realizada usando o software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD).

2.8 qRT-PCR

O RNA total foi extraído de amostras contendo 25 mg do tecido ventricular esquerdo usando o reagente TRIZOL[®] (Invitrogen Corporation, Califórnia, EUA) de acordo com as especificações do fabricante. A integridade e qualidade do RNA purificado foram analisadas utilizando eletroforese em gel de agarose e pela análise de absorbância (NanoDrop 2000) das amostras a 260 e 260/280nm, respectivamente. Para a remoção do DNA genômico, 1 µg do RNA total de cada amostra foi tratado com DNase I (Invitrogen Corporation California, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. O RNA tratado foi reversamente transcrito em cDNA usando GoScript[™] Reverse Transcriptase (Promega Corporation, Madison, WI, USA). A expressão dos genes foi analisada por qRT- PCR através dos primers específicos contidos na Tabela 1. O melhor gene constitutivo foi determinado pelo programa RefFinder (<https://www.heartcure.com.au/reffinder/>), sendo considerado o GAPDH como o melhor gene para a normalização dos dados. Os resultados foram expressos utilizando o método do ciclo de limiar comparativo ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001).

Tabela 1. Sequência dos primers utilizados para a realização da qRT-PCR dos genes alvos.

Genes	Forward 5'-3'	Reverse 5'-3'	Nº de acesso
TNF-α	CCAGAACTCCAGGCGGTGTC	GGCTACGGGCTTGTCACCTCG	XM_008772775.2
MCP-1	AGCCAGATGCAGTTAATGCC	ACACCTGCTGCTGGTGATTCT	NM_002982.4
OSTEOPONTINA	GACTTTGGCAGCTCAGAGGA	TCTGCTTCTGACATGGGTCA	NM_001106.4
CTGF	CAGGCTGGAGAAGCAGAGTCGT	CTGGTGCAGCCAGAAAGCTCAA	NM_022266.2
TGF-β1	CCCCTGGAAAGGGCTCAACAC	TCCAACCCAGGTCCTTCCTAAAGTC	NM_021578.2
COL1A1	ATCAGCCCAAACCCCAAGGAGA	CGCAGGAAGGTCAGCTGGATAG	NM_053304.1
TIMP-1	ATAGTGCTGGCTGTGGGGTGTG	TGATCGCTCTGGTAGCCCTTCTC	NM_053819.1
TIMP-2	GGACACGCTTAGCATCACCCAGA	GTCCATCCAGAGGCACTCATCC	NM_021989.2
MMP-2	CTGGGTTTACCCCTGATGTCC	AACCGGGGTCATTTTCTTCTTT	NM_031054.2
GAPDH	GATGCTGGTGCTGAGTATGT	GTGGTGCAGGATGCATTGCTGA	XR: 598347.1

2.9 Elisa

A concentração de IL-10 no plasma sanguíneo foi medida por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) com uma diluição de 1: 2. O método seguiu as especificações dos kits OptEIA (BD Biosciences®) (IL-10: Cat. No. 555134). A absorbância em 450 nm foi medida usando um leitor de microplacas. As concentrações das amostras foram calculadas a partir da curva de titulação dos padrões de citocinas e das concentrações finais de proteína no plasma, e foram expressas em pg / mg-1.

2.10 Análise Estatística

Após passar por inspeção visual, a normalidade dos dados foi confirmada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para os dados normais utilizamos a análise de variância ANOVA two-way e para os não-normais a análise de variância Kruskal-wallis, para comparar o efeito das condições LCHF-S, LCHF-TR, CONT-S e CONT-TR nas variáveis dependentes (i.e., marcadores inflamatórios, atividade das MMPs e TIMPs, expressão gênica, fibrose cardíaca, largura dos cardiomiócitos, peso do ventrículo esquerdo e peso do coração). Em caso de valores de F significativos, um post-hoc de Tukey ou Dunn

foram aplicados para realização de comparações múltiplas para os respectivos testes de variância. O programa estatístico usado foi o GraphPad Prism® (GraphPad, San Diego, CA, USA, 1998) e o valor de P significativo foi determinado como $P < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Análise de Zimografia

Não foram observados efeitos de dieta ou treinamento para a Pró-MMP-2 (**Figura 6 B**), MMP-2 Intermediária (**Figura 6 C**) e MMP-2 Ativa (**Figura 6 D**) ($P > 0,05$).

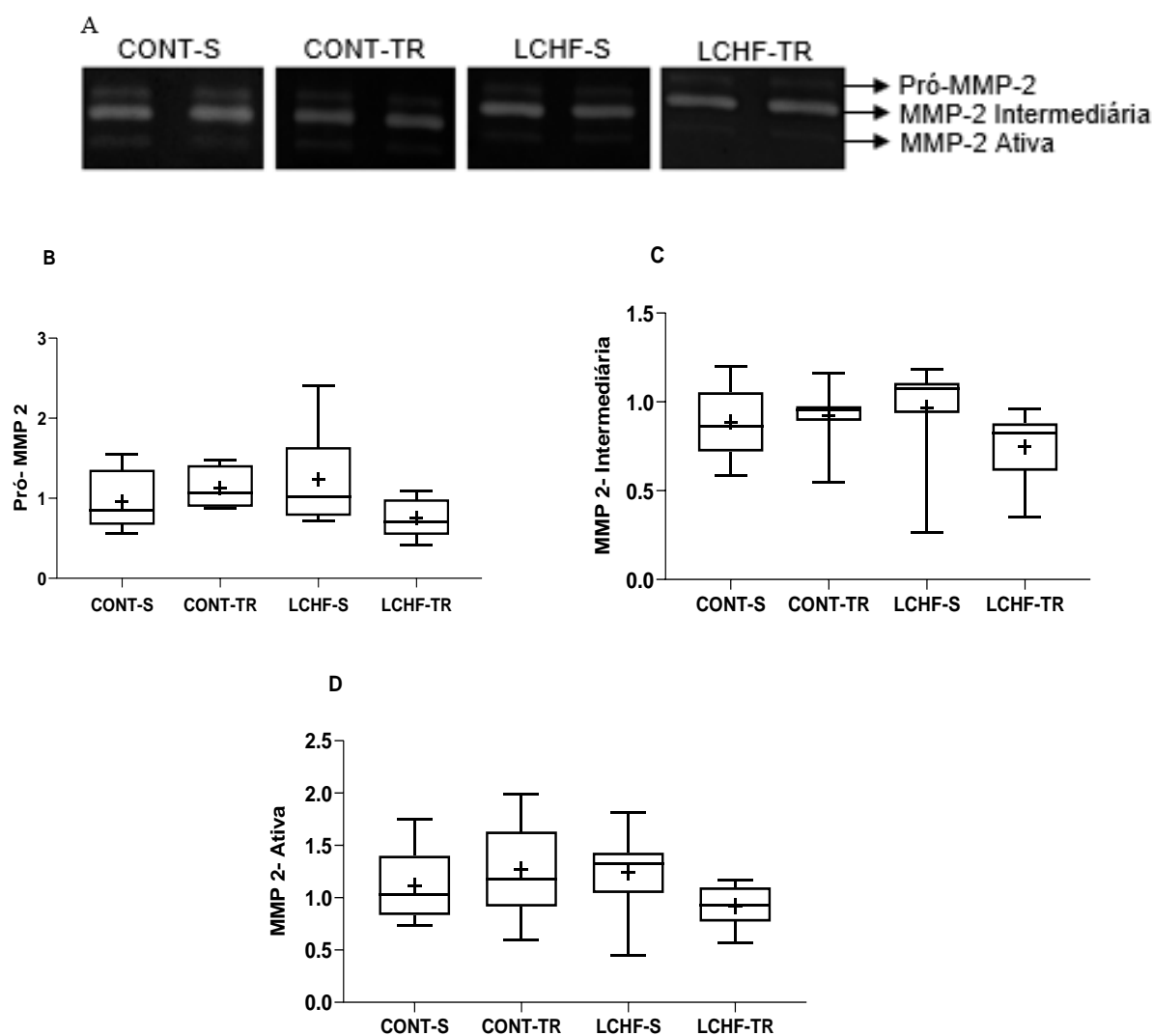
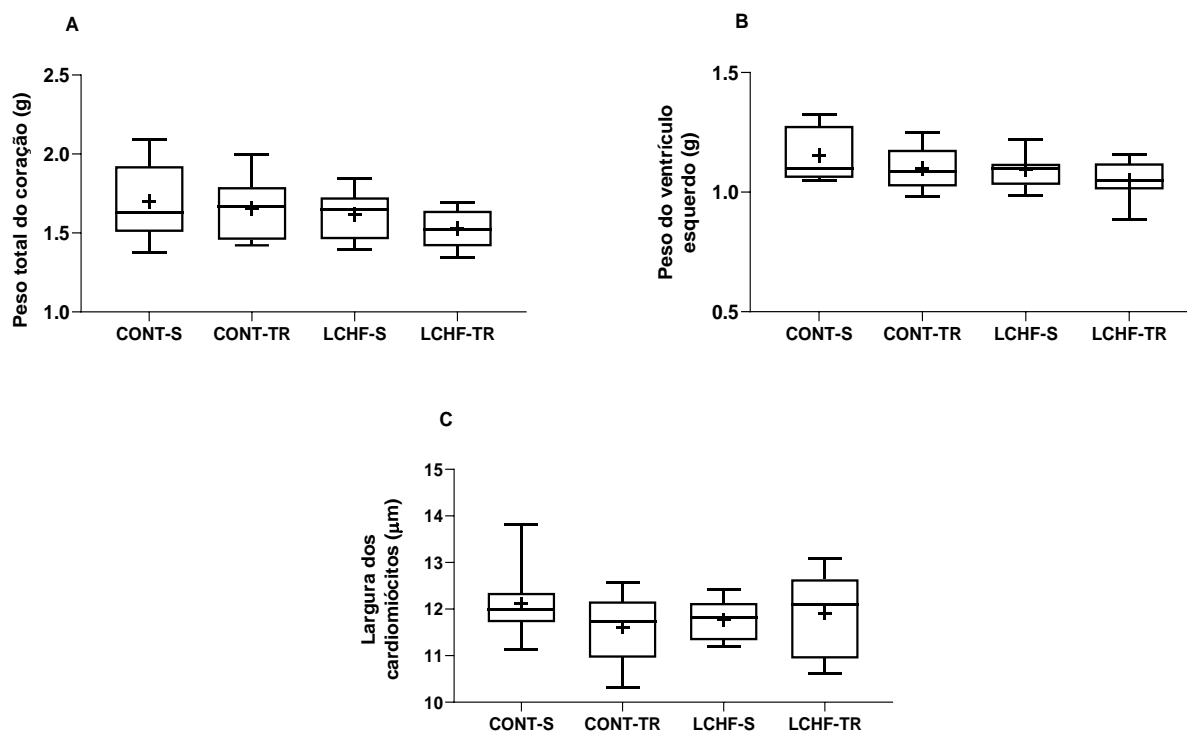


Figura 6. Bandas representativas das Pró-MMP-2, MMP-2 intermediária e MMP-2 ativa em gel de zimografia com gelatina (**A**). Resposta do grupo controle sedentário (CONT-S), controle

treinado (CONT-TR), *low carb high fat* sedentário (LCHF-S) e *low carb high fat* treinado (LCHF-TR) na atividade da (B) Pró-MMP-2, (C) MMP-2 Intermediária e (D) MMP-2 Ativa. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo.

3.2 Hipertrofia cardíaca

Não foram observados efeitos de dieta ou treinamento para o peso do coração (Figura 7 A), peso do ventrículo esquerdo (Figura 7 B) e largura dos cardiomiócitos (Figura 7 C) entre os grupos ($P > 0.05$).



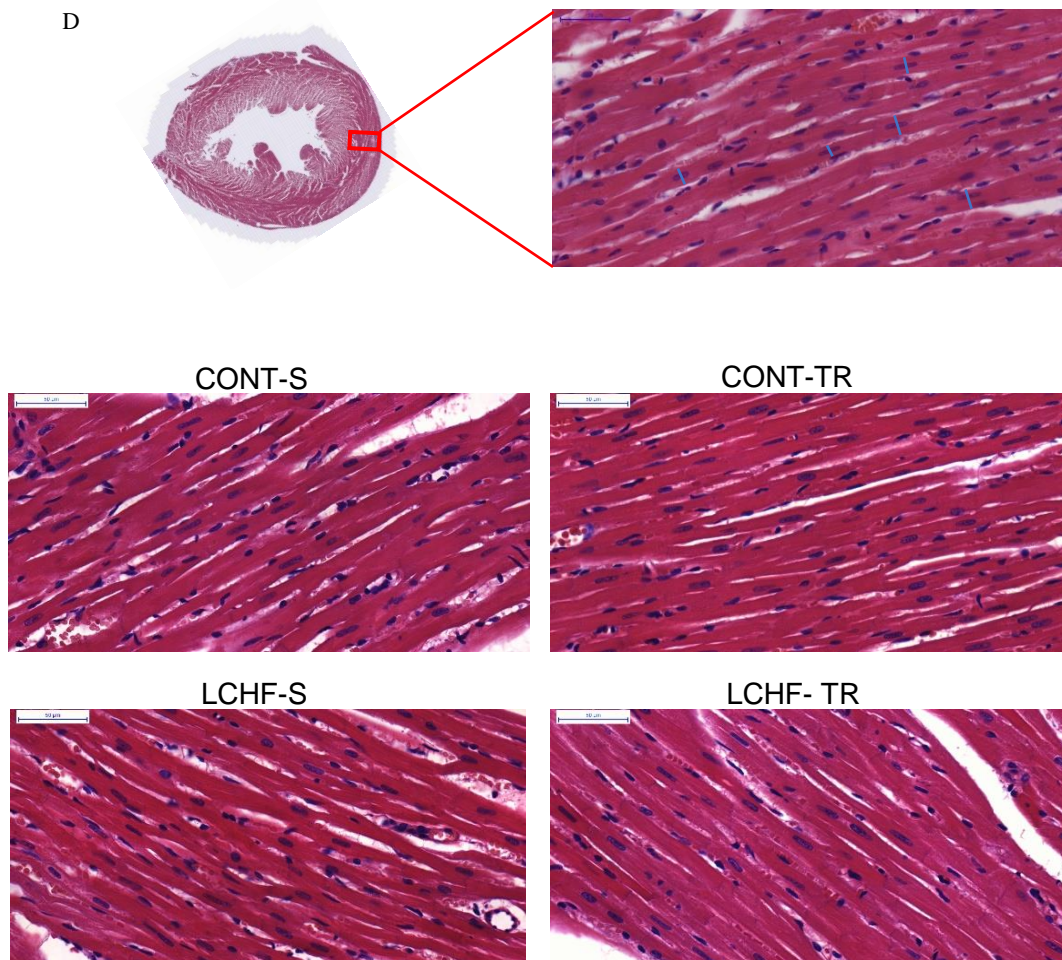


Figura 7. Resposta do grupo controle sedentário (CONT-S), controle treinado (CONT-TR), *low carb high fat* sedentário (LCHF-S) e *low carb high fat* treinado (LCHF-TR) no (A) peso do coração, (B) peso do ventrículo esquerdo e (C) largura dos cardiomiócitos. (D) Imagens representativas da análise e grupos de cortes corados com hematoxilina e eosina (HE). Barra de escala = 50 µm. Ampliação de 40x. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo.

3.3 Fibrose cardíaca

Não foram observados efeitos da dieta ou treinamento para a quantia de fibras colágenas no ventrículo esquerdo identificadas por coloração de picrossírius (**Figura 8 A**) ($P > 0.05$).

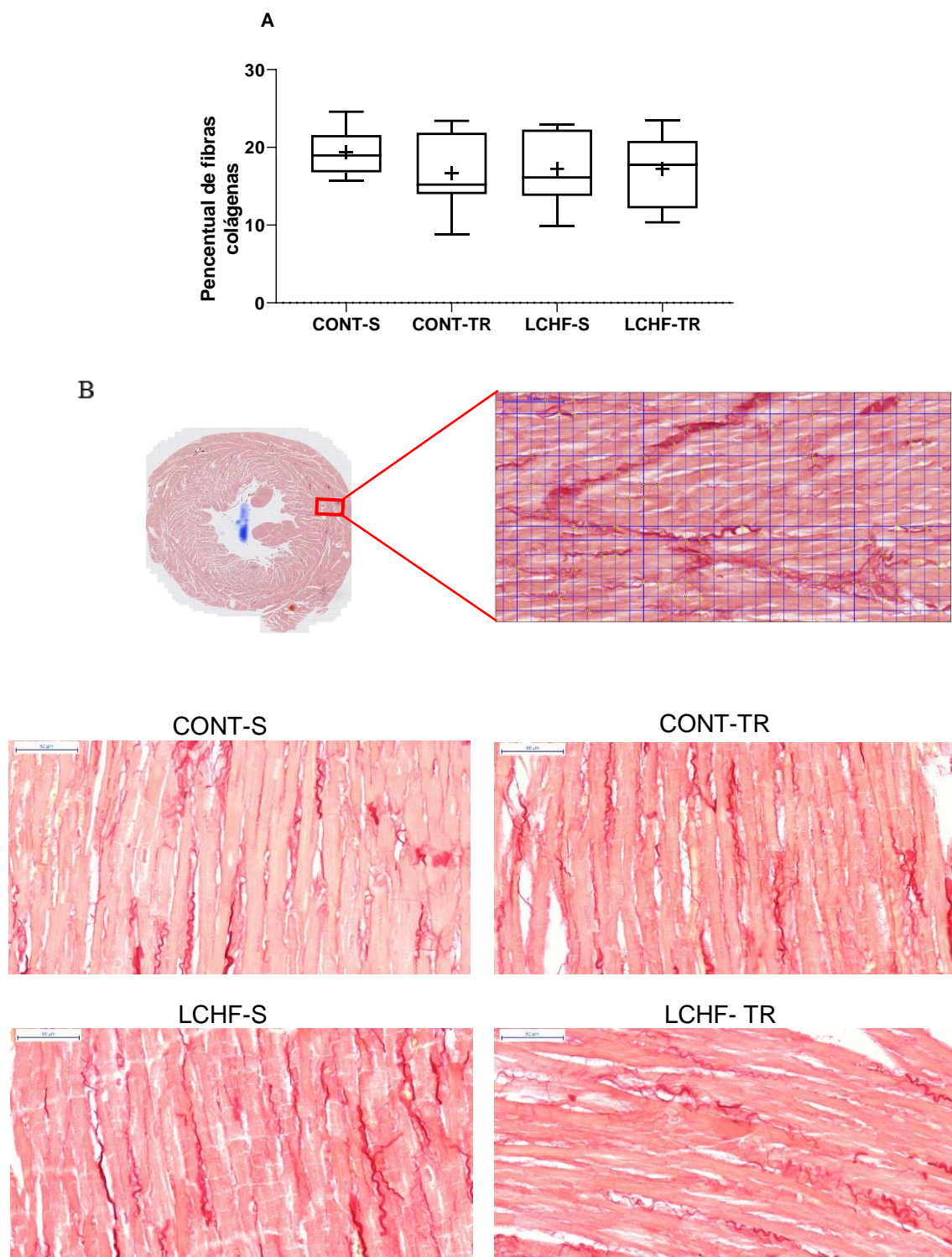


Figura 8. Resposta do grupo controle sedentário (CONT-S), controle treinado (CONT-TR), *low carb high fat* sedentário (LCHF-S) e *low carb high fat* treinado (LCHF-TR) na (A) deposição de fibras colágenas no ventrículo esquerdo. (B) Imagens representativas da análise e grupos de cortes corados com Picrosirius (PS). Barra de escala = 50 µm. Ampliação de 40x. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo.

3.4 qRT-PCR

3.4.1 Genes Pró-Inflamatórios

Foi observada uma menor expressão de TGF- β para os grupos que realizaram a dieta LCHF, comparados aos grupos dieta CONT ($P < 0.0001$) (**Figura 9 A**). Observamos uma maior expressão de MCP-1 ($P < 0,05$) (**Figura 9 B**) e uma menor expressão de Osteopontina ($P < 0,05$) (**Figura 9 C**) para os grupos dois grupos que realizaram a dieta LCHF comparados aos dois grupos que realizaram a dieta CONT. Não foram observadas diferenças na expressão de TNF- α , entre os grupos (**Figura 9 D**) ($P < 0,05$). Não foram observados efeitos do TR para nenhum dos genes analisados (**Figura 9 A – D**) ($P > 0,05$).

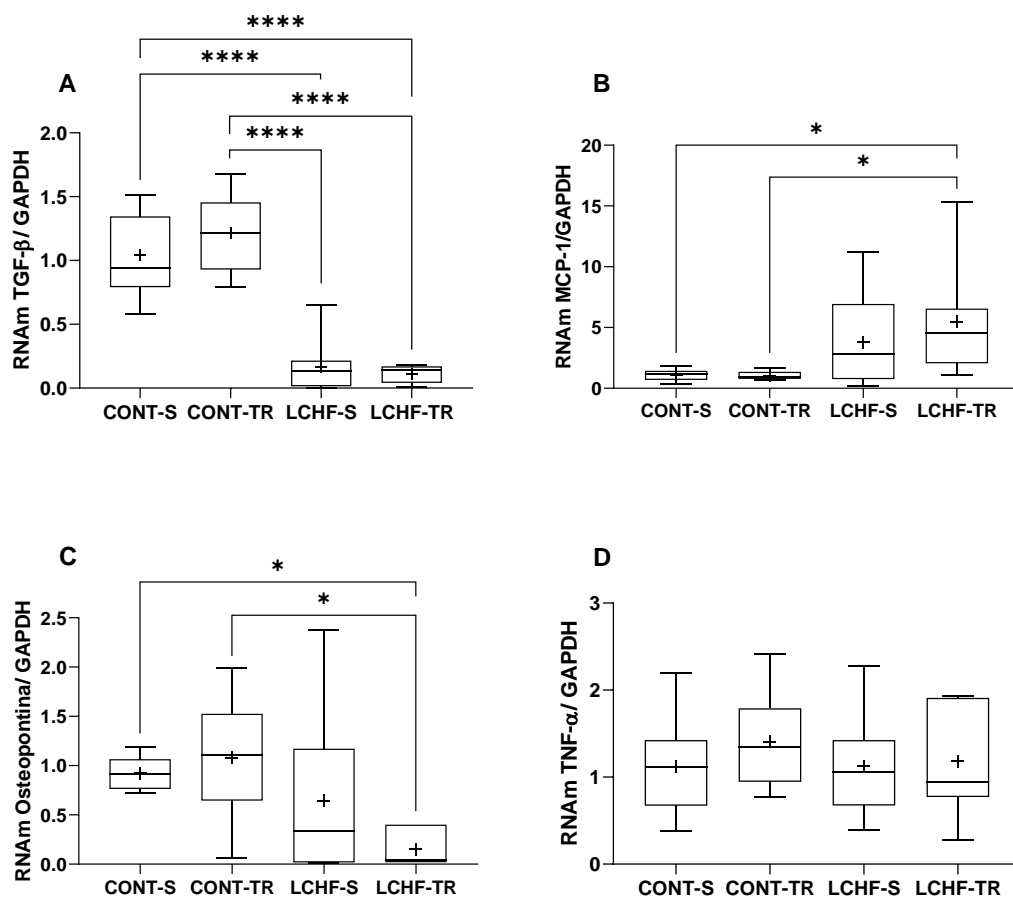


Figura 8. Expressão gênica de (A) TGF- β , (B) MCP-1, (C) Osteopontina e (D) TNF- α . Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo. * $P < 0,05$. **** $P < 0,0001$.

3.4.2 Genes da Matriz extracelular

Não observamos alterações na expressão de CTGF (**Figura 10 A**) ($P > 0.05$).

Observamos uma menor expressão de TIMP-1, para o grupo LCHF-S comparado ao CONT-TR (**Figura 10 B**) ($P < 0.05$). Foi observada uma menor expressão do gene TIMP-2 para o grupo LCHF-S comparado aos dois grupos que realizaram a dieta CONT ($P > 0,001$) (**Figura 10 C**). Também foi observada uma menor expressão de TIMP-2 para o grupo LCHF-TR comparado aos dois grupos que realizaram a dieta CONT ($P > 0,0001$) (**Figura 10 C**). Não foram observados efeitos do TR para nenhum dos genes (**Figura 10 A – C**) ($P > 0,05$).

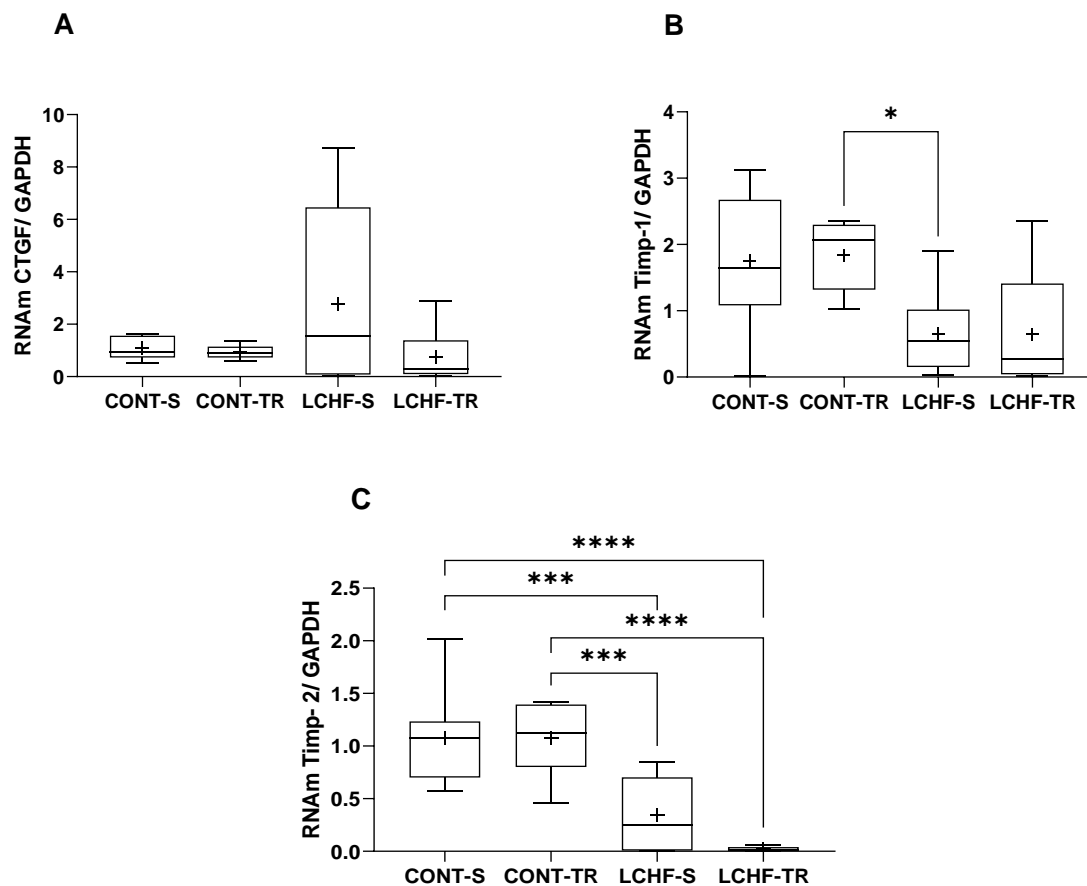


Figura 10. Expressão gênica de (A) CTGF, (B) TIMP-1, (C) TIMP-2. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo. * $P < 0,05$. *** $P < 0,001$. **** $P < 0,0001$.

3.4.3 Genes indicativos de Fibrose

O grupo LCHF-S apresentou menores valores de expressão do gene Colágeno tipo I comparado aos grupos CONT-S ($P < 0,01$) e CONT-TR ($P < 0,05$) (**Figura 11**). O grupo LCHF-TR também apresentou menor expressão para esse gene comparado aos grupos CONT-S ($P < 0,0001$) e CONT-TR ($P < 0,001$) (**Figura 11**). Não foram observados efeitos do TR ($P > 0,05$) (**Figura 11**).

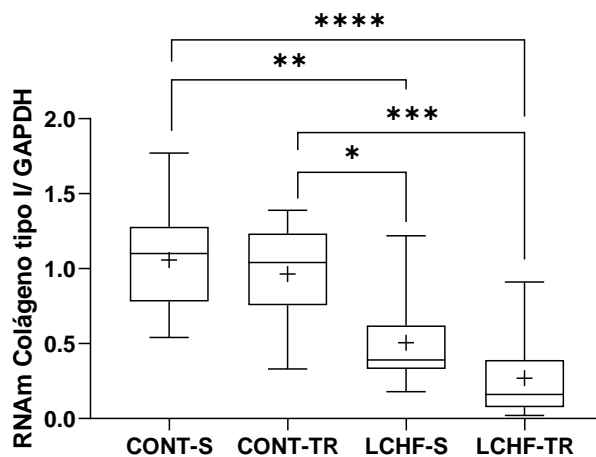


Figura 11. Expressão gênica do Colágeno tipo I. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). $n=9$ por grupo. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$. *** $P < 0,001$. **** $P < 0,0001$.

3.5 Elisa

3.5.1 IL-10

Não foi encontrada diferença significativa entre grupos para a concentração da citocina IL-10 (pg/mg^{-1}) no plasma sanguíneo. (**Figura 12**) ($P > 0,05$)

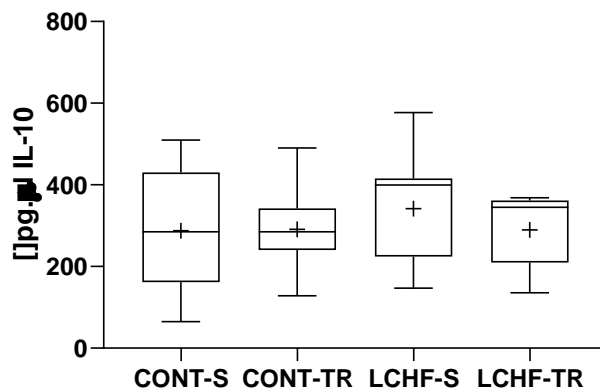


Figura 12. Teste imunoenzimático ELISA. Dosagem de IL-10 entre os grupos de análise. Os valores são apresentados como mediana (linha), com intervalo interquartil (caixa), valores máximo e mínimo e média (+). n=9 por grupo.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos da interação do modelo de dieta LCHF e do TR nos mecanismos envolvidos no remodelamento da MECC e na morfologia do coração. Nós demonstramos que a utilização da dieta LCHF associada ou não ao TR parece afetar a expressão de alguns genes envolvidos no processo inflamatório (TGF- β , MCP-1 e Osteopontina) e no remodelamento da MECC (TIMP -1 e 2). Contudo, não observamos diferenças na concentração de IL-10 e na atividade da Pró-MMP-2, MMP-2 Intermediária e MMP-2 Ativa. Adicionalmente, encontramos diminuição na expressão de Colágeno tipo I para os grupos LCHF comparados aos grupos CONT. Apesar disso, não observamos efeito da dieta e/ou treinamento na deposição de fibras colágenas no ventrículo esquerdo. Por fim, não foram observadas alterações morfológicas cardíacas em nenhum dos níveis de análise (i.e., peso do coração, peso do ventrículo esquerdo e largura dos cardiomiócitos).

O desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias é um dos principais mecanismos envolvidos no aumento do risco cardiovascular (BARTEKOVA *et al.*, 2018). Esse equilíbrio pode ser afetado por diversos fatores extrínsecos, como as dietas e exercícios físicos (BARTEKOVA *et al.*, 2018). Nesse sentido, nós expandimos os resultados da literatura demonstrando que a dieta LCHF modula diferentemente cada uma das citocinas. Enquanto observamos uma diminuição da expressão de Osteopontina e TGF- β e ausência de efeito para TNF- α e IL-10, houve aumento na expressão de MCP-1. Tem sido atribuído a MCP-1 o papel de promover a infiltração de macrófagos no tecido cardíaco, o que pode aumentar consideravelmente o risco cardiovascular

(MAKAREWICZ-WUJEC e KOZLOWSKA-WOJCIECHOWSKA, 2011; LÓPEZ *et al.*, 2021). Contudo, os aumentos na expressão de MCP-1 não foram acompanhados de alterações patológicas na histologia do coração. Esse fenômeno pode estar associado a dois fatores: i) os aumentos na expressão de MCP-1 podem ter sido compensados pela diminuição na quantidade de outras citocinas (e.g., Osteopontina e TGF- β) e/ou; ii) as alterações na MCP-1 a nível transcricional não foi suficiente para resultar em alterações no restante dos mecanismos envolvidos no remodelamento patológico do coração. Futuros estudos devem investigar a interação da MCP-1 com outros mecanismos relacionados ao remodelamento patológico do tecido cardíaco.

A literatura tem demonstrado que o consumo de dietas ricas em gordura tem sido associado ao aumento do risco cardiovascular em ratos (PINHEIRO *et al.*, 2007; SENE-FIORESE *et al.*, 2008; GOLLISCH *et al.*, 2009). Esse aumento do risco cardiovascular pode ser atribuído à disfunções nos reguladores da MECC (SPINALE, 2002; BARTEKOVA *et al.*, 2018). Nesse sentido, nós demonstramos uma menor expressão de TIMP-1 para o grupo LCHF-S comparado ao CONT-TR e menor expressão de TIMP-2 para os dois grupos LCHF comparados aos grupos CONT. Os TIMP-1 e 2 parecem regular negativamente a atividade das MMPs (ARPINO *et al.*, 2015; FAN e KASSIRI, 2021). Portanto, seria plausível sugerir que as diminuições na expressão desses genes induzidos pela dieta LCHF fossem acompanhadas de um aumento na atividade das MMPs. No entanto, as alterações observadas nos TIMP-1 e 2 a nível de gene não afetaram a atividade das MMP-2. Esses resultados não corroboram outros estudos que demonstraram alteração na atividade da Pró-MMP-2, MMP-2 Intermediária em ratos submetidos a dietas com alto teor de gordura (LEITE *et al.*, 2013). Embora os animais dos grupos LCHF-S e LCHF-TR tenham recebido uma dieta com alto teor de gordura, o percentual de gordura encontrado dos nossos animais (dados reportados em (STOTZER

et al., 2018) foi menor do que os reportados por LEITE *et al.* (2013). Possivelmente, embora não tenhamos observado diferenças na ingestão calórica entre nossos grupos (dados reportados em (STOTZER *et al.*, 2018), essa falta de alinhamento entre os resultados de LEITE *et al.* (2013) e os nossos tenham ocorrido pelas diferenças na composição da dieta LCHF. Nosso modelo de dieta LCHF foi composto por 60% de gordura, 10% de proteína e 30% de carboidrato, enquanto LEITE *et al.* (2013) utilizou 30% de gordura, 15% de proteína e 55% carboidrato. Nesse sentido, é possível que, embora a dieta LCHF possa afetar a expressão das TIMP-1 e 2, os efeitos deletérios dessa dieta na atividade da MMP-2 seja observado apenas quando o modelo de dieta utilizado é capaz de induzir aumentos muito expressivos no peso dos animais. Essa hipótese pode ser sustentada pelo fato de que o desarranjo da atividade da MMP-2 está relacionado a existência de um processo inflamatório crônico, típico do quadro de obesidade (ESSER *et al.*, 2014; MAURIZI *et al.*, 2018). A esse respeito, assim como nos mecanismos inflamatórios mencionados anteriormente, o aumento na expressão de genes que podem afetar a atividade das MMPs pode ter sido compensado pela diminuição na expressão de outros. Com relação ao efeito do exercício, nossa hipótese era de que os efeitos deletérios da dieta LCHF na atividade da MMP-2 não seriam atenuados com a prática do TR. Contudo, os animais LCHF-S e LCHF-TR não desenvolveram esses efeitos deletérios induzidos pela dieta quando comparado aos grupos de dieta controle independentemente da realização do TR ou não. Adicionalmente, não observamos diferenças para nenhuma das formas da MMP-2 entre os animais CONT-S e CONT-TR. Nos achados de LEITE *et al.* (2013) somente para a atividade da Pró-MMP-2 foi observado um aumento para o grupo controle que realizou TR comparado ao controle sedentário, enquanto não houve diferença entre esses dois grupos para as MMP-2 intermediária e MMP-2 Ativa. Em conjunto com os achados da literatura, nossos resultados sugerem que o TR, como

realizado neste experimento, parece ter pouco efeito sobre a atividade da MMP-2 no coração de ratos considerados não obesos (dados reportados em (STOTZER *et al.*, 2018).

O remodelamento cardíaco é um processo fisiológico dinâmico que ocorre principalmente pelo *turnover* (i.e., relação entre síntese e degradação) de colágeno a fim de manter as funções desse órgão (BISHOP e LAURENT, 1995; LÓPEZ *et al.*, 2021). Quando a taxa de síntese aumenta desproporcionalmente comparada à taxa de degradação de colágeno, um processo de fibrose cardíaca pode rapidamente ser iniciado (BISHOP e LAURENT, 1995; FRANGOIANNIS, 2019a). Dentre os fatores que podem favorecer o surgimento da fibrose cardíaca, a utilização de dietas com alto teor de gordura tem recebido destaque (HALTON *et al.*, 2006; FUNG *et al.*, 2010; RUTH *et al.*, 2013; TOBIAS *et al.*, 2015). Embora alguns estudos tenham demonstrado que esses modelos de dieta induzem fibrose cardíaca em ratos (PINHEIRO *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2015), esses resultados não são universais (CARROLL *et al.*, 2006). Nesse sentido, embora tenhamos demonstrado uma menor expressão do gene de Colágeno tipo I para os grupos LCHF comparados aos CONT, não encontramos diferenças entre o percentual de fibras colágenas entre os tipos de dieta, independentemente da realização do TR. É possível que a diferença encontrada na expressão de Colágeno tipo I entre os grupos não tenha sido suficiente para promover alterações a nível histológico. Um dos principais mecanismos pelos quais a fibrose cardíaca se desenvolve é o desbalanço na atividade das MMPs, uma vez que uma diminuição na atividade das MMPs pode resultar em uma deposição excessiva de colágeno na MECC (SPINALE, 2002; AHMED *et al.*, 2006; LÓPEZ *et al.*, 2021). Considerando que o nível de atividade da MMP-2 foi similar entre os animais LCHF e CONT, é plausível sugerir que a dieta LCHF não foi capaz de gerar desarranjos na atividade dessa enzima.

Com relação ao efeito do exercício físico, Pinheiro et al. (2007) demonstraram que o treinamento aeróbico foi capaz de diminuir a fibrose cardíaca em animais submetidos a dieta controle e também a com alto teor de gordura, quando comparado aos seus controles sedentários. De fato, o efeito do treinamento aeróbico na diminuição da fibrose cardíaca tem sido demonstrado com consistência na literatura, até mesmo em modelos que envolvem outros “gatilhos” da fibrose que não a dieta (e.g., envelhecimento) (KWAK *et al.*, 2011; ROSSONI *et al.*, 2011). Já com relação aos efeitos do TR na fibrose cardíaca, a literatura ainda é bastante escassa. GUZZONI *et al.* (2017) investigaram o efeito do TR na fibrose cardíaca induzida pelo envelhecimento. Os resultados demonstraram que o TR foi capaz de induzir diminuição na fibrose cardíaca dos animais idosos e jovens treinados, quando comparados aos seus controles sedentários. Pelo nosso conhecimento, nosso estudo foi o primeiro a investigar a interação da dieta LCHF com um protocolo de TR. Ao contrário da fibrose induzida pelo envelhecimento reportada por Guzzoni et al. (2017), o modelo de dieta LCHF não foi capaz de induzir fibrose cardíaca nos nossos animais. Adicionalmente, Guzzoni et al. (2017) reportaram aumento na atividade da MMP-2 e diminuição da fibrose cardíaca para o grupo de ratos jovens treinados quando comparados aos seus pares sedentários. Nós por outro lado, não observamos diferenças na atividade da MMP-2 e fibrose cardíaca entre nossos animais CONT-S e CONT-TR, apesar do protocolo de TR ter sido similar ao de Guzzoni et al. (2017). É possível que essa divergência entre os resultados tenha ocorrido pela diferença na duração do protocolo de TR entre os estudos (12 semanas no estudo de Guzzoni vs. 10 semanas no nosso estudo). Nesse sentido, nós encorajamos futuros estudos a investigarem o *time-course* da fibrose cardíaca e nos mecanismos envolvidos nesse processo.

O aumento da deposição de colágeno no coração é sugerido como um dos principais mecanismos responsáveis pela hipertrofia patológica do coração (TIMMS *et al.*, 2002;

AHMED *et al.*, 2006; HALLIDAY e PRASAD, 2019). A hipertrofia do coração, em especial a do ventrículo esquerdo, ocorre principalmente pelo aumento das dimensões dos cardiomiócitos (WANG *et al.*, 2015; HALLIDAY e PRASAD, 2019) e é responsável por aumentar de três a cinco vezes a chance de morte por problemas cardíacos (TIMMS *et al.*, 2002). A literatura tem demonstrado que dietas ricas em gordura são capazes de aumentar o peso do coração, do ventrículo esquerdo e as dimensões dos cardiomiócitos (PINHEIRO *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2015). Contudo, esses resultados não são um consenso (LEITE *et al.*, 2013). Nesse sentido, nossos resultados também não demonstraram aumentos no coração em nenhum dos níveis de análise (i.e., peso do coração, peso do ventrículo esquerdo e aumento na largura dos cardiomiócitos) induzidos pela dieta LCHF. Nos estudos onde foi observado aumento do coração e/ou ventrículo e/ou cardiomiócitos, também foi observado um elevado nível de fibrose cardíaca (PINHEIRO *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2015). Já o estudo que não observou aumento do coração e ventrículo esquerdo, não realizou medidas de fibrose cardíaca. Contudo, baseados nos nossos resultados, podemos sugerir que os aumentos das dimensões dos cardiomiócitos, peso do ventrículo esquerdo e coração parecem não acontecer, ao menos quando o modelo de dieta LCHF não induz a fibrose cardíaca. Adicionalmente, não observamos efeito do TR (i.e., CONT-S vs. CONT-TR e LCHF-S vs. LCHF-TR) na hipertrofia cardíaca em nenhum dos níveis de análise. Embora seja comum que a literatura reporte que o TR é capaz de induzir hipertrofia cardíaca fisiológica (MELO *et al.*, 2018), esses resultados também não são consensuais. Nesse sentido, nós corroboramos os resultados de outros estudos que também não encontraram efeito tanto do TR (GUZZONI *et al.*, 2017) quanto de outros métodos de treinamento (PERRAULT e TURCOTTE, 1994; FEWELL *et al.*, 1997; MORÁN *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2010; LEITE *et al.*, 2013; STURGEON *et al.*, 2015) na hipertrofia do coração. É provável que a ausência do

efeito do TR tenha ocorrido pela baixa frequência de treinamento utilizada no nosso estudo (GUZZONI *et al.*, 2017).

Nosso estudo traz à luz algumas reflexões importantes. Inicialmente, havíamos hipotetizado que a dieta LCHF promoveria um desequilíbrio no perfil inflamatório e na atividade da MMP-2, resultando em uma excessiva deposição de colágeno na MECC com consequente hipertrofia do coração, que não poderiam ser minimizados pelo TR. Contudo, observamos que a dieta LCHF foi tão efetiva quanto a CONT em manter a saúde do coração, independentemente da prática do TR. É importante salientar que apesar dos grupos CONT e LCHF terem iniciado o período de dieta com o mesmo peso, por volta da semana 5 os animais LCHF apresentaram um menor peso corporal comparado aos CONT (ewpSTOTZER *et al.*, 2018). Quando os animais foram subdivididos nos grupos CONT-S, CONT-TR, LCHF-S e LCHF-TR, os LCHF-S e LCHF-TR ainda tinham menor peso comparado aos seus controles (dados reportados em (STOTZER *et al.*, 2018). Somente na semana 13 e 19 o grupo LCHF-S atingiu o mesmo peso que o CONT-S e ultrapassou o peso do LCHF-TR, respectivamente (dados reportados em (STOTZER *et al.*, 2018). De fato, o percentual de gordura observado nos nossos animais LCHF-S e LCHF-TR (~30-35%) (dados reportados em (STOTZER *et al.*, 2018) foi menor comparado aos animais LCHF-S e LCHF-TR no estudo de Leite *et al.* (2013) (~48-55%). Nesse sentido, nossos animais LCHF-S e LCHF-TR permaneceram em uma condição de sobrepeso comparado aos seus controles por um período muito curto. Essas observações podem ajudar a explicar o fato dos mecanismos envolvidos na deposição excessiva de colágeno na MEC bem como a hipertrofia cardíaca não terem sido induzidos pela dieta e/ou atenuados pelo TR. Portanto, nossos resultados não devem ser extrapolados para modelos de dieta que induzam o ganho de peso bem como para sujeitos que já são obesos. Adicionalmente, nossos resultados também não devem ser extrapolados para outros

tecidos além do cardíaco. Esses fatos nos permitem especular que os efeitos deletérios no coração são causados pela obesidade ao invés da dieta LCHF propriamente dita. Nesse sentido, encorajamos futuros estudos a investigarem outros modelos de dietas ricas em gordura, principalmente as do tipo insaturadas e que não induzam a obesidade (e.g., dieta do mediterrâneo) na saúde do coração (SALAS-SALVADÓ *et al.*, 2018; MAZZOCCHI *et al.*, 2019).

5 CONCLUSÃO

Nossa hipótese inicial era de que a dieta LCHF, promoveria um aumento dos marcadores de inflamação crônica, desbalanço das MMPs e TIMPs, maior deposição de colágeno na MECC resultando em fibrose e hipertrofia do ventrículo esquerdo, independente da realização do TR. No entanto, as alterações encontradas nos marcadores envolvidos no perfil inflamatório e no remodelamento da MECC, não foram capazes de gerar fibrose e hipertrofia cardíaca. Dessa forma, sugerimos que a dieta LCHF parece não promover efeitos adversos na saúde do coração independentemente da associação com o TR, ao menos para os modelos de dieta e TR utilizados por nós ao longo do período investigado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S. H.; CLARK, L. L.; PENNINGTON, W. R.; WEBB, C. S.; BONNEMA, D. D.; LEONARDI, A. H.; MCCLURE, C. D.; SPINALE, F. G.; ZILE, M. R. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. *Circulation*, v. 113, n. 17, p. 2089-96, May 2 2006. ISSN 0009-7322.

ARPINO, V.; BROCK, M.; GILL, S. E. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol*, v. 44-46, p. 247-54, May-Jul 2015. ISSN 0945-053x.

ASHTON, R. E.; TEW, G. A. Effects of short-term, medium-term and long-term resistance exercise training on cardiometabolic health outcomes in adults: systematic review with meta-analysis. v. 54, n. 6, p. 341-348, Mar 2020. ISSN 0306-3674.

BARTEKOVA, M.; RADOSINSKA, J.; JELEMENSKY, M.; DHALLA, N. S. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. **Heart Fail Rev**, v. 23, n. 5, p. 733-758, Sep 2018. ISSN 1382-4147.

BISHOP, J. E.; LAURENT, G. J. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. **Eur Heart J**, v. 16 Suppl C, p. 38-44, May 1995. ISSN 0195-668X.

CARROLL, J. F.; ZENEBE, W. J.; STRANGE, T. B. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 48, n. 1, p. 65-72, Jul 2006. ISSN 0194-911x.

CLEUTJENS, J. P.; KANDALA, J. C.; GUARDA, E.; GUNTAKA, R. V.; WEBER, K. T. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. **J Mol Cell Cardiol**, v. 27, n. 6, p. 1281-92, Jun 1995. ISSN 0022-2828.

DANIELS, A.; VAN BILSEN, M.; GOLDSCHMEDING, R.; VAN DER VUSSE, G. J.; VAN NIEUWENHOVEN, F. A. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 195, n. 3, p. 321-38, Mar 2009. ISSN 1748-1708.

ELLIOT, C. A.; HAMLIN, M. J. Combined diet and physical activity is better than diet or physical activity alone at improving health outcomes for patients in New Zealand's primary care intervention. **BMC Public Health**, v. 18, n. 1, p. 230, 2018/02/08 2018. ISSN 1471-2458. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5152-z> >.

ESSER, N.; LEGRAND-POELS, S.; PIETTE, J.; SCHEEN, A. J.; PAQUOT, N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 105, n. 2, p. 141-50, Aug 2014. ISSN 0168-8227.

FAN, D.; KASSIRI, Z. Modulation of Cardiac Fibrosis in and Beyond Cells. **Front Mol Biosci**, v. 8, p. 750626, 2021. ISSN 2296-889X.

FAN, D.; TAKAWALE, A.; LEE, J.; KASSIRI, Z. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. **Fibrogenesis Tissue Repair**, v. 5, n. 1, p. 15, Sep 3 2012. ISSN 1755-1536.

FEWELL, J. G.; OSINSKA, H.; KLEVITSKY, R.; NG, W.; SFYRIS, G.; BAHREHMAND, F.; ROBBINS, J. A treadmill exercise regimen for identifying cardiovascular phenotypes in transgenic mice. **Am J Physiol**, v. 273, n. 3 Pt 2, p. H1595-605, Sep 1997. ISSN 0002-9513.

FRANGOIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. **Mol Aspects Med**, v. 65, p. 70-99, Feb 2019a. ISSN 0098-2997.

_____. The Extracellular Matrix in Ischemic and Nonischemic Heart Failure. **Circ Res**, v. 125, n. 1, p. 117-146, Jun 21 2019b. ISSN 0009-7330.

FUNG, T. T.; VAN DAM, R. M.; HANKINSON, S. E.; STAMPFER, M.; WILLETT, W. C.; HU, F. B. Low-carbohydrate diets and all-cause and cause-specific mortality: two cohort studies. **Ann Intern Med**, v. 153, n. 5, p. 289-98, Sep 7 2010. ISSN 0003-4819.

GOLLISCH, K. S. C.; BRANDAUER, J.; JESSEN, N.; TOYODA, T.; NAYER, A.; HIRSHMAN, M. F.; GOODYEAR, L. J. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. v. 297, n. 2, p. E495-E504, 2009.

GUZZONI, V.; MARQUETI, R. D. C.; DURIGAN, J. L. Q.; CARVALHO, H. F. D.; LINO, R. L. B.; MEKARO, M. S.; SANTOS, T. O. C.; MECAWI, A. S.; RODRIGUES, J. A.; HORD, J. M.; LAWLER, J. M.; DAVEL, A. P.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S. Reduced collagen accumulation and augmented MMP-2 activity in left ventricle of old rats submitted to high-intensity resistance training. v. 123, n. 3, p. 655-663, 2017.

GUZZONI, V.; RIBEIRO, M. B. T.; LOPES, G. N.; DE CASSIA MARQUETI, R.; DE ANDRADE, R. V.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S.; DURIGAN, J. L. Q. Effect of Resistance Training on Extracellular Matrix Adaptations in Skeletal Muscle of Older Rats. **Front Physiol**, v. 9, p. 374, 2018. ISSN 1664-042X.

HALLIDAY, B. P.; PRASAD, S. K. The Interstitium in the Hypertrophied Heart. **JACC Cardiovasc Imaging**, v. 12, n. 11 Pt 2, p. 2357-2368, Nov 2019. ISSN 1876-7591.

HALTON, T. L.; WILLETT, W. C.; LIU, S.; MANSON, J. E.; ALBERT, C. M.; REXRODE, K.; HU, F. B. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. **N Engl J Med**, v. 355, n. 19, p. 1991-2002, Nov 9 2006. ISSN 0028-4793.

HASKELL, W. L.; LEE, I. M.; PATE, R. R.; POWELL, K. E.; BLAIR, S. N.; FRANKLIN, B. A.; MACERA, C. A.; HEATH, G. W.; THOMPSON, P. D.; BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 8, p. 1423-34, Aug 2007. ISSN 0195-9131.

JOHNS, D. J.; HARTMANN-BOYCE, J.; JEBB, S. A.; AVEYARD, P. Diet or exercise interventions vs combined behavioral weight management programs: a systematic review and meta-analysis of direct comparisons. **J Acad Nutr Diet**, v. 114, n. 10, p. 1557-68, Oct 2014. ISSN 2212-2672.

KIM, S. H.; TURNBULL, J.; GUIMOND, S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. **J Endocrinol**, v. 209, n. 2, p. 139-51, May 2011. ISSN 0022-0795.

KOLAHDOUZI, S.; BAGHADAM, M.; KANI-GOLZAR, F. A.; SAEIDI, A.; JABBOUR, G.; AYADI, A.; DE SOUSA, M.; ZOUITA, A.; ABDERRAHMANE, A. B.; ZOUHAL, H.

Progressive circuit resistance training improves inflammatory biomarkers and insulin resistance in obese men. **Physiol Behav**, v. 205, p. 15-21, Jun 1 2019. ISSN 0031-9384.

KONG, P.; CHRISTIA, P.; FRANGOIANNIS, N. G. The pathogenesis of cardiac fibrosis. **Cell Mol Life Sci**, v. 71, n. 4, p. 549-74, Feb 2014. ISSN 1420-682X.

KWAK, H. B.; KIM, J. H.; JOSHI, K.; YEH, A.; MARTINEZ, D. A.; LAWLER, J. M. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. **Faseb j**, v. 25, n. 3, p. 1106-17, Mar 2011. ISSN 0892-6638.

LAFUSE, W. P.; WOZNIAK, D. J.; RAJARAM, M. V. S. Role of Cardiac Macrophages on Cardiac Inflammation, Fibrosis and Tissue Repair. **Cells**, v. 10, n. 1, Dec 31 2020. ISSN 2073-4409.

LEITE, R. D.; DURIGAN RDE, C.; DE SOUZA LINO, A. D.; DE SOUZA CAMPOS, M. V.; SOUZA, M.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; BOUSKELA, E.; KRAEMER-AGUIAR, L. G. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. **Metabolism**, v. 62, n. 10, p. 1477-84, Oct 2013. ISSN 0026-0495.

LEKAVICH, C. L.; ALLEN, J. D.; BENSIMHON, D. R.; BATEMAN, L. A.; SLENTZ, C. A.; SAMSA, G. P.; KENJALE, A. A.; DUSCHA, B. D.; DOUGLAS, P. S.; KRAUS, W. E. Aerobic Versus Resistance Training Effects on Ventricular-Arterial Coupling and Vascular Function in the STRIDE-AT/RT Trial. v. 8, n. 226, 2021-April-01 2021. ISSN 2297-055X.

LI, L.; ZHAO, Q.; KONG, W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. **Matrix Biol**, v. 68-69, p. 490-506, Aug 2018. ISSN 0945-053x.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, Dec 2001. ISSN 1046-2023.

LÓPEZ, B.; RAVASSA, S.; MORENO, M. U. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches. v. 18, n. 7, p. 479-498, Jul 2021. ISSN 1759-5002.

MAKAREWICZ-WUJEC, M.; KOZLOWSKA-WOJCIECHOWSKA, M. Nutrient intake and serum level of gamma-glutamyltransferase, MCP-1 and homocysteine in early stages of heart failure. **Clin Nutr**, v. 30, n. 1, p. 73-8, Feb 2011. ISSN 0261-5614.

MARTINS, F. M.; DE PAULA SOUZA, A.; NUNES, P. R. P.; MICHELIN, M. A.; MURTA, E. F. C.; RESENDE, E.; DE OLIVEIRA, E. P.; ORSATTI, F. L. High-intensity body weight training is comparable to combined training in changes in muscle mass, physical performance, inflammatory markers and metabolic health in postmenopausal women at high risk for type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. **Exp Gerontol**, v. 107, p. 108-115, Jul 1 2018. ISSN 0531-5565.

MAURIZI, G.; DELLA GUARDIA, L.; MAURIZI, A.; POLONI, A. Adipocytes properties and crosstalk with immune system in obesity-related inflammation. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 1, p. 88-97, Jan 2018. ISSN 0021-9541.

MAZZOCCHI, A.; LEONE, L.; AGOSTONI, C.; PALI-SCHÖLL, I. The Secrets of the Mediterranean Diet. Does [Only] Olive Oil Matter? **Nutrients**, v. 11, n. 12, Dec 3 2019. ISSN 2072-6643.

MELO, S. F. S.; DA SILVA JÚNIOR, N. D.; BARAUNA, V. G.; OLIVEIRA, E. M. Cardiovascular Adaptations Induced by Resistance Training in Animal Models. **Int J Med Sci**, v. 15, n. 4, p. 403-410, 2018. ISSN 1449-1907.

MIENALTOWSKI, M. J.; BIRK, D. E. Structure, physiology, and biochemistry of collagens. **Adv Exp Med Biol**, v. 802, p. 5-29, 2014. ISSN 0065-2598.

MORÁN, M.; SABORIDO, A.; MEGÍAS, A. Ca²⁺ regulatory systems in rat myocardium are altered by 24 weeks treadmill training. **Pflugers Arch**, v. 446, n. 2, p. 161-8, May 2003. ISSN 0031-6768.

NILSSON, J.; ERICSSON, M. A low-carbohydrate high-fat diet decreases lean mass and impairs cardiac function in pair-fed female C57BL/6J mice. v. 13, p. 79, 2016. ISSN 1743-7075.

NOAKES, T. D.; WINDT, J. Evidence that supports the prescription of low-carbohydrate high-fat diets: a narrative review. **Br J Sports Med**, v. 51, n. 2, p. 133-139, Jan 2017. ISSN 0306-3674.

NOTO, H.; GOTO, A.; TSUJIMOTO, T.; NODA, M. Low-carbohydrate diets and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e55030, 2013. ISSN 1932-6203.

PERRAULT, H.; TURCOTTE, R. A. Exercise-induced cardiac hypertrophy. Fact or fallacy? **Sports Med**, v. 17, n. 5, p. 288-308, May 1994. ISSN 0112-1642.

PINHEIRO, A. R.; CUNHA, A. R.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 17, n. 5, p. 365-375, 2007/06/01/ 2007. ISSN 0939-4753.

RAMOS-CAMPO, D. J.; ANDREU CARAVACA, L.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.; RUBIO-ARIAS, J. Effects of Resistance Circuit-Based Training on Body Composition, Strength and Cardiorespiratory Fitness: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Biology (Basel)**, v. 10, n. 5, Apr 28 2021. ISSN 2079-7737.

RODRIGUES, M. D.; BORIN, S. H.; SILVA, C. A. D. Relações metabólicas em ratos sob o treinamento anaeróbio em escada. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 39, p. 63-67, 2017. ISSN 0101-3289.

ROSS, L. J.; BYRNES, A.; HAY, R. L.; CAWTE, A.; MUSIAL, J. E. Exploring the highs and lows of very low carbohydrate high fat diets on weight loss and diabetes- and cardiovascular disease-related risk markers: A systematic review. **Nutr Diet**, v. 78, n. 1, p. 41-56, Feb 2021. ISSN 1446-6368.

ROSSONI, L. V.; OLIVEIRA, R. A.; CAFFARO, R. R.; MIANA, M.; SANZ-ROSA, D.; KOIKE, M. K.; DO AMARAL, S. L.; MICHELINI, L. C.; LAHERA, V.; CACHOFEIRO, V. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v. 29, n. 12, p. 2349-58, Dec 2011. ISSN 0263-6352.

RUTH, M. R.; PORT, A. M.; SHAH, M.; BOURLAND, A. C.; ISTFAN, N. W.; NELSON, K. P.; GOKCE, N.; APOVIAN, C. M. Consuming a hypocaloric high fat low carbohydrate diet for 12 weeks lowers C-reactive protein, and raises serum adiponectin and high density lipoprotein-cholesterol in obese subjects. **Metabolism**, v. 62, n. 12, p. 1779-87, Dec 2013. ISSN 1532-8600.

SALAS-SALVADÓ, J.; BECERRA-TOMÁS, N.; GARCÍA-GAVILÁN, J. F.; BULLÓ, M.; BARRUBÉS, L. Mediterranean Diet and Cardiovascular Disease Prevention: What Do We Know? **Prog Cardiovasc Dis**, v. 61, n. 1, p. 62-67, May-Jun 2018. ISSN 0033-0620.

SARDELI, A. V.; TOMELERI, C. M.; CYRINO, E. S.; FERNHALL, B.; CAVAGLIERI, C. R.; CHACON-MIKAHIL, M. P. T. Effect of resistance training on inflammatory markers of older adults: A meta-analysis. **Exp Gerontol**, v. 111, p. 188-196, Oct 1 2018. ISSN 0531-5565.

SENE-FIORESE, M.; DUARTE, F. O.; SCARMAGNANI, F. R. R.; CHEIK, N. C.; MANZONI, M. S. J.; NONAKA, K. O.; ROSSI, E. A.; DE DUARTE, A. C. G. O.; DÂMASO, A. R. Efficiency of Intermittent Exercise on Adiposity and Fatty Liver in Rats Fed With High-fat Diet. v. 16, n. 10, p. 2217-2222, 2008. ISSN 1930-7381.

SILVA, A.; BRUNO LOURENÇO, D.; EKATERINA AKIMOVNA BOTOVCHENCO, R.; JOSÉ MAURO, G.; LUISA MARIA GOMES DE MACEDO, B.; MARCEL, F. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica: Fascículo 1: Introdução Geral. **Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal**, 2016.

SILVA, B. S. A.; LIRA, F. S.; ROSSI, F. E.; RAMOS, D.; UZELOTO, J. S.; FREIRE, A.; DE LIMA, F. F.; GOBBO, L. A.; RAMOS, E. M. C. Inflammatory and Metabolic Responses to Different Resistance Training on Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Randomized Control Trial. **Front Physiol**, v. 9, p. 262, 2018. ISSN 1664-042X.

SIVASUBRAMANIAN, N.; COKER, M. L.; KURRELMeyer, K. M.; MACLELLAN, W. R.; DEMAYO, F. J.; SPINALE, F. G.; MANN, D. L. Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. **Circulation**, v. 104, n. 7, p. 826-31, Aug 14 2001. ISSN 0009-7322.

SPINALE, F. G. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. **Circ Res**, v. 90, n. 5, p. 520-30, Mar 22 2002. ISSN 0009-7330.

STOTZER, U. S.; PISANI, G. F. D.; CANEVAZZI, G. H. R.; SHIGUEMOTO, G. E.; DUARTE, A.; PEREZ, S. E. A.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S. Benefits of resistance training on body

composition and glucose clearance are inhibited by long-term low carbohydrate diet in rats. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0207951, 2018. ISSN 1932-6203.

STURGEON, K.; MUTHUKUMARAN, G.; DING, D.; BAJULAIYE, A.; FERRARI, V.; LIBONATI, J. R. Moderate-intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte cross-sectional area. **Physiol Rep**, v. 3, n. 5, May 2015. ISSN 2051-817X.

TIAN, D.; MENG, J. Exercise for Prevention and Relief of Cardiovascular Disease: Prognoses, Mechanisms, and Approaches. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2019, p. 3756750, 2019. ISSN 1942-0900.

TIMMS, P. M.; WRIGHT, A.; MAXWELL, P.; CAMPBELL, S.; DAWNAY, A. B.; SRIKANTHAN, V. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels are elevated in essential hypertension and related to left ventricular hypertrophy. **Am J Hypertens**, v. 15, n. 3, p. 269-72, Mar 2002. ISSN 0895-7061.

TOBIAS, D. K.; CHEN, M.; MANSON, J. E.; LUDWIG, D. S.; WILLETT, W.; HU, F. B. Effect of low-fat diet interventions versus other diet interventions on long-term weight change in adults: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 3, n. 12, p. 968-79, Dec 2015. ISSN 2213-8595.

TURNER, N. A.; PORTER, K. E. Regulation of myocardial matrix metalloproteinase expression and activity by cardiac fibroblasts. v. 64, n. 2, p. 143-150, 2012. ISSN 1521-6543.

VALIENTE-ALANDI, I.; SCHAFER, A. E.; BLAXALL, B. C. Extracellular matrix-mediated cellular communication in the heart. **J Mol Cell Cardiol**, v. 91, p. 228-37, Feb 2016. ISSN 1095-8584.

VERONESE, N.; LI, Y.; MANSON, J. E.; WILLETT, W. C.; FONTANA, L.; HU, F. B. Combined associations of body weight and lifestyle factors with all cause and cause specific mortality in men and women: prospective cohort study. **Bmj**, v. 355, p. i5855, Nov 24 2016. ISSN 0959-8138.

WANG, Y.; WISLOFF, U.; KEMI, O. J. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. **Physiol Res**, v. 59, n. 5, p. 633-644, 2010. ISSN 0862-8408.

WANG, Z.; LI, L.; ZHAO, H.; PENG, S.; ZUO, Z. Chronic high fat diet induces cardiac hypertrophy and fibrosis in mice. **Metabolism**, v. 64, n. 8, p. 917-25, Aug 2015. ISSN 0026-0495.

WITTIG, C.; SZULCEK, R. Extracellular Matrix Protein Ratios in the Human Heart and Vessels: How to Distinguish Pathological From Physiological Changes? **Front Physiol**, v. 12, p. 708656, 2021. ISSN 1664-042X.

YANG, Q.; LANG, X.; LI, W. The effects of low-fat, high-carbohydrate diets vs. low-carbohydrate, high-fat diets on weight, blood pressure, serum lipids and blood glucose: a systematic review and meta-analysis. Jun 24 2021. ISSN 0954-3007.

