

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO NA AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E
NA ATIVIDADE DA MMP-2 NOS MÚSCULOS BÍCEPS E GASTROCNÊMIO DE RATOS
OBESOS

Markus Vinicius Campos Souza

SÃO CARLOS – SP
2013

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO NA AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E
NA ATIVIDADE DA MMP-2 NOS MÚSCULOS BÍCEPS E GASTROCNÊMIO DE RATOS
OBESOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO NA AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E
NA ATIVIDADE DA MMP-2 NOS MÚSCULOS BÍCEPS E GASTROCNÊMIO DE RATOS
OBESOS

Markus Vinicius Campos Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: Fisiologia do Exercício.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez

SÃO CARLOS – SP
2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S729et

Souza, Markus Vinicius Campos.

Efeito do treinamento resistido na avaliação da composição corporal e na atividade da MMP-2 nos músculos bíceps e gastrocnêmio de ratos obesos / Markus Vinicius Campos Souza. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
41 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Fisiologia. 2. Obesidade. 3. Metaloproteinase (MMP-2).
4. Músculo esquelético. I. Título.

CDD: 612 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

Dissertação de Mestrado de Markus Vinicius Campos Souza

Dia 05/04/2013

Prof. Dr. Sergio Eduardo de Andrade Perez.....

Prof. Dr. Guilherme Borges Pereira.....

Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto.....



The image shows three handwritten signatures in black ink, each written over a horizontal dotted line. The top signature is for Prof. Dr. Sergio Eduardo de Andrade Perez. The middle signature is for Prof. Dr. Guilherme Borges Pereira. The bottom signature is for Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto, written in blue ink. The signatures are stylized and cursive.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais ANTÔNIO EDSON DE SOUZA e CÉLIA CAMPOS SOUZA, por não medirem esforços para a minha formação profissional. Agradeço de coração pelo apoio prestado em mais uma etapa da minha vida.

Ao meu irmão MATHEUS CAMPOS SOUZA pelo apoio, incentivo e conversas sensatas que me fez ter mais forças para alcançar esta etapa.

Aos meus anjos que sempre pediram a Deus para iluminar meu caminho, minhas avós AUTA MARTINS DE OLIVEIRA CAMPOS E ILDA RODRIGUES PEIXOTO (in memoriam).

Aos meus primos, tios e amigos de Uberaba que mesmo distante contribuíram com pensamentos positivos, dando-me forças para suportar a saudade de casa.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório que minimizaram os obstáculos no decorrer do caminho.

Ao amigo e irmão RICHARD DIEGO LEITE, por não medir esforços para me auxiliar, acompanhar e orientar desde a elaboração, até a conclusão desse manuscrito.

A todos os profissionais da área diretamente ligado ao remodelamento tecidual dos músculos esqueléticos, a obesidade e ao treinamento resistido.

AGRADECIMENTO

Primeiramente, a Deus por me proporcionar as alegrias da vida, iluminar meu caminho e dar forças para realizar os meus trabalhos. Agradeço também ao meu pai Antônio Edson de Souza, que com toda a sua simplicidade me fez uma pessoa melhor. À minha mãe Célia Campos Souza, que sempre acreditou, incentivou e auxiliou as minhas decisões pessoais e profissionais. Ao meu irmão Matheus Campos Souza, pelo amor incondicional e sincero.

Aos meus irmãos e amigos de Uberaba Maria Dionilde e Lelo Campos Alexandre, Wandir Campos Junior, Frederico e Felipe Gomides Dumont, Arthur Pereira da Silva, Fagner Gomides Torres e David Marcelo Barbosa que forneceram todo o suporte emocional durante esta etapa da minha vida.

Aos meus queridos tios Paulo Campos, Antônia Campos Alexandre, Wandir Campos, Paula Menezes da Cunha e Margarida Maria de Souza Santos, por todo o carinho que têm comigo.

Aos companheiro de república Guilherme Borges Pereira, Anderson Diogo de Souza Lino, Rodrigo Ferro Magosso, Danilo Rodrigues Bertucci e José Campanholi Neto, que tiveram paciência nos meus momentos conturbados e participaram dos momentos alegres em São Carlos.

Ao grande amigo Richard Diego Leite, por mostrar o lado divertido da vida e também por me ajudar nos primeiros passos na comunidade científica e auxiliando na elaboração deste manuscrito.

Ao Gilberto Eiji Shiguemoto, pelas horas de conversa sobre conduta e ética tanto na vida pessoal quanto profissional e também pela orientação prestada na elaboração deste trabalho.

Aos professores Sérgio e Vilmar, por abrirem as portas do laboratório, pelas conversas e amizade.

Aos professores do departamento de Ciência Fisiológicas que abriram as portas dos seus laboratórios para realização deste projeto.

À Márcia competência, dedicação e por sempre disponibilizar parte do seu tempo para nos ajudar.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências Fisiológicas que tive oportunidade de adquirir conhecimento durante as aulas.

A todos, Muito Obrigado!

RESUMO

O objetivo do presente estudo, foi investigar a influência do treinamento resistido na composição corporal e a atividade metaloproteinases de matrix 2 (MMP-2) nos músculos bíceps e gastrocnêmio em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Foram avaliados 32 ratos machos *Wistar* divididos em quatro grupos experimentais (n=8/cada) de acordo com o tipo de dieta e o treinamento: Controle (C; dieta padrão), Controle Obeso [C-Ob; dieta: hiperlipídica (30% de gordura)], Exercício Resistido (EX; dieta padrão) e Exercício Resistido Obeso (EX-Ob; dieta hiperlipídica). Após o desmame (dia 21), os animais foram submetidos à dieta experimental durante 24 semanas. Após 12 semanas de dieta os animais realizaram um período de 12 semanas de treinamento resistido, durante o qual os animais escalavam uma escada vertical de 1,1 metros com pesos atados a cauda. As sessões de treinamento foram realizadas três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) com 4 a 9 escaladas e 8 a 12 movimentos dinâmicos a cada subida com dois minutos de intervalo de recuperação. O treinamento resistido induziu redução significativa na massa corporal, massa gorda, percentual de gordura nos animais do grupo EX ($p < 0,05$). O grupo C apresentou massa corporal e massa gorda significativamente maiores e valores de massa magra significativamente menores quando comparado com os animais do grupo EX. O treinamento resistido aumentou a atividade da MMP-2 nos músculos bíceps e gastrocnêmio ($p < 0.05$), favorecendo dessa forma, o remodelamento tecidual em ambos os grupos treinados. Por fim, a carga de carregamento de ambos os grupos treinados não foi diferente estatisticamente, no entanto, a força relativa (carga de carregamento/massa corporal) foi estatisticamente maior no grupo EX ($p < 0.05$). O treinamento resistido promoveu mudanças importantes na composição corporal, atividade da MMP-2 nos músculos bíceps e gastrocnêmio e na força relativa. Assim o treinamento resistido pode ser uma estratégia para minimizar os efeitos deletérios induzidos pelo consumo de uma dieta hiperlipídica e as co-morbidades associadas à obesidade no músculo esquelético.

Palavras chave: Treinamento Resistido, Obesidade, Metaloproteinase de Matrix 2 (MMP-2) e Musculo Esquelético.

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the influence of resistance training on body composition and active matrix metalloproteinases 2 (MMP-2) on biceps and gastrocnemius muscles in rats with high fat diet. We evaluated 32 Wistar rats divided into four experimental groups (n=8/each) according to diet and exercise status: Control Group (C; standard diet), Obese Control Group [C-Ob; hiperlipidic diet (30% of fat)], Resistance Exercise (RE; standard diet) and Resistance Exercise Obese (RE-Ob; hiperlipidic diet). After weaning (day 21), animals were subjected to the experimental diet according to their groups during 24 weeks. A 12-week strength-training period was used, during which the animals climbed a 1.1-m vertical ladder with weights attached to their tails. The sessions were performed three times/week (Mondays, Wednesdays and Fridays, with 4–9 climbs/session and 8–12 dynamic movements/climb with two rest minutes. Resistance training induced a significant reduction in body mass, fat mass, fat percentage in group RE ($p < 0,05$). Resistance training increased the activity of MMP-2 on bicipes and gastrocnemius muscle ($p < 0,05$), favoring thus the tissue remodeling in both groups trained. Finally, the carrying load trained both groups was not statistically different, however, the relative strength (carrying load/body weight) was statistically higher in group RE ($p < 0,05$). Resistance training promoted significant changes in body composition, MMP-2 activity in the biceps and gastrocnemius and the relative strength. Thus resistance training may be a strategy to minimize the deleterious effects induced by consumption of a high fat diet and the co-morbidities associated with obesity in skeletal muscle.

Keywords: Resistance Training, Obesity, Matrix Metalloproteinases 2 (MMP-2), Skeletal Muscle.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho experimental	17
Figura 2: Escada para treinamento	18
Figura 3: Protocolo para determinação da carga máxima de carregamento	19
Figura 4: Protocolo do treinamento resistido	20
Figura 5: Efeito do treinamento resistido e dieta hiperlipídica	26
Figura 6: Evolução temporal da carga de treinamento	27
Figura 7: Força Relativa.....	27
Figura 8: Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica na atividade MMP-2.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional das dietas.	21
Tabela 2: Massa e composição corporal dos grupos experimentais.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍGLAS E SÍMBOLOS

MEC – Matrix Extracelular

MMPs – Metaloproteinases

TIMPs – Inibidores Teciduais de Metaloproteínaes

MMP-2 – Metaloproteinase 2

DXA – Densitometria por Dupla Emissão de Raios-X

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral

MAPK – Quinase Ativada por Mitógeno

C – Grupo Controle

C-Ob – Grupo Controle Obeso

EX – Grupo Exercício Resistido

EX-Ob – Grupo Exercício Resistido Obeso

UA – Unidades Arbitrárias

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2- MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
2.1- ANIMAIS	16
2.2- PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	16
2.3- PROTOCOLO DE TREINAMENTO	17
2.4- CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR E DA MASSA CORPORAL.....	20
2.5- MASSA CORPORAL E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	21
2.6- PREPARAÇÃO DO TECIDO	22
2.7- ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
3- RESULTADOS	23
4- DISCUSSÃO	29
5- CONCLUSÃO	32
6- LIMITAÇÕES DO ESTUDO	33
7- REFERÊNCIAS	33
8- ANEXO I.....	40

1- INTRODUÇÃO

A interação entre fatores genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais são preponderantes para o desenvolvimento da obesidade, proporcionando o acúmulo de energia sob a forma de gordura no organismo (Heber, 2010). Os fatores que contribuem para o aumento do peso corporal são; o consumo de dietas hiperlipídicas e/ou um balanço energético positivo. Os maiores riscos à saúde provocados pela dietas hiperlipídicas estão relacionados com a obesidade abdominal, uma vez que este tecido frequentemente sofre hipertrofia, hiperplasia e também aumenta a liberação de citocinas pró-inflamatórias, levando ao desenvolvimento da inflamação crônica (Heber, 2010), dessa forma, essa condição altera vários sistemas orgânicos, aumentando o risco de co-morbidades relacionadas a obesidade (Gregor e Hotamisligil, 2011), como doenças cardiovasculares, dislipidemias, diabetes, sarcopenia, dentre outros. Devido aos efeitos deletérios do acúmulo de tecido adiposo, os estudos visam buscar estratégias para preveni-los e/ou atenuá-los (Petersen e Pedersen, 2005; Vieira, Valentine *et al.*, 2009).

Estudos prévios, têm demonstrado a influência negativa que a obesidade exerce sobre o remodelamento do tecido muscular. Esse remodelamento está diretamente ligado a perda de massa muscular, que por sua vez favorece a diminuição da taxa metabólica basal (TMB), esses aspectos em conjunto com o nível de atividade física contribuem para aumento do tecido adiposo em todo o organismo (Matsakas e Narkar, 2010; Benton, Whyte *et al.*, 2011). No músculo esse processo de remodelamento tecidual ocorre por meio da degradação de componentes da matriz extracelular (MEC) e é importante para manutenção da estrutura das fibras musculares (Carmeli, Moas *et al.*, 2004).

As miofibrilas, os componentes contráteis do músculo esquelético, são envoltas por uma membrana, o sarcolema, que está associado à lâmina basal. Essa por sua vez, fornece suporte estrutural para as miofibrilas e é importante na manutenção da integridade fisiológica das mesmas, garantindo o reparo das fibras musculares após lesões e exercício excessivo (Carmeli, Moas *et al.*, 2004). Ademais, remodelamento do tecido muscular é dependente também de alterações estruturais e metabólicas na MEC, dentre elas: a biossíntese do colágeno (maior componente da MEC), a organização e estrutura de enzimas proteolíticas na MEC, como as Metaloproteinases (MMPs) e os inibidores teciduais de MMPs (TIMPs) (Carmeli, Moas *et al.*, 2005).

O remodelamento da MEC é essencial para o desenvolvimento e regeneração do tecido

muscular. O remodelamento da MEC é influenciado pelo exercício físico, pela síntese de colágeno e pelo aumento na atividade da MMP com a carga mecânica (Carmeli, Moas *et al.*, 2005). As MMPs são uma família de endopeptidases dependente de Zinco com capacidade de degradar um ou mais constituinte da matriz extracelular incluindo colágenos, elastina, fibronectina, laminina, proteoglicanos, entre outros (Yamada, Tatsumi *et al.*, 2006).

Uma das mais importantes MMPs encontradas no músculo esquelético é a Metaloproteinase 2 (MMP-2), também conhecida como gelatinase-A, ou colagenase tipo IV com 72 kDa, a qual pode ser transformada em sua forma ativa com 62 kDa. Esta metaloproteinase regula a integridade da MEC e a composição do músculo esquelético, em especial a proliferação, diferenciação e mudanças nas fibras após danos por estresse mecânico, bem como manutenção do tecido conectivo (Kjaer, Langberg *et al.*, 2009). Também é expressada na MEC sobre muitas condições patológicas, tais como inflamação e exercícios extenuantes (Koskinen, Wang *et al.*, 2001). A ativação das MMPs pode ser dependente de citocinas, estresse oxidativo, proteína kinase ativada por mitogeno (MAPK), que por sua vez é estimulada por fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) interleucina 1 (IL-1) (Carmeli, Moas *et al.*, 2004)

A atividade da MMP-2 é encontrada nos tecidos sobre constante modificações e um aumento nessa atividade é indicativo de degradação da matriz, que é necessário para o desenvolvimento tecidual (Kjaer, Langberg *et al.*, 2009). Especificamente para o músculo esquelético, apesar de já estar bem fundamentado na literatura que as MMPs estão diretamente envolvidas tanto no remodelamento tecidual e no desenvolvimento de processos patológicos (Marqueti, Prestes *et al.*, 2008), não estão completamente elucidados os mecanismos pelos quais o remodelamento ocorre em ratos obesos submetidos ao treinamento resistido. Mas sabe-se que o tecido adiposo contribui para a atividade das MMPs e possivelmente o remodelamento muscular (Stamenkovic, 2003; Yamada, Tatsumi *et al.*, 2006). Dessa forma, ocorre diminuição da massa muscular, o que contribui para o desenvolvendo da obesidade sarcopênica (Benton, Whyte *et al.*, 2011).

A obesidade sarcopênica é caracterizado pela diminuição na massa magra, concomitante ao aumento na massa gorda (Roubenoff, 2000). A obesidade por si pode ser resultante de um desequilíbrio entre consumo e gasto energético, que contribui para aumento no tecido adiposo e redução na massa muscular, diminuindo assim taxa metabólica basal, que por sua vez leva a mudanças na composição corporal e favorece o aumento na composição de gordura corporal (Waters e Baumgartner, 2011). Baumgartner (2000) descreveu pela primeira vez como sendo uma diminuição na massa muscular

menor que 25% em relação aos valores de indivíduos jovens e saudáveis, quando medida pelo método de densitometria por dupla emissão de raios-X (DXA) - menor que 2 Desvio Padrão, também pode ser determinada por bioimpedância, medida antropométricas e força muscular. Já a sarcopenia é fortemente relacionada com aumento de comprometimento funcional, fragilidade física, bem como diminuição na qualidade de vida. A obesidade sarcopênica, contribui para atrofia do tecido muscular por influenciar negativamente a proliferação e diferenciação das células satélites musculares, responsáveis pelo processo de hipertrofia do músculo esquelético (Adams, 2006). Um dos determinantes da diminuição da massa muscular frente à obesidade parece ser as citocinas liberadas pelo tecido adiposo, que como sendo um órgão metabolicamente ativo, com capacidade de secretar citocinas pró-inflamatórias como as Interleucina 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), favorece a ativação das MMPs remodelando o tecido e influencia negativamente as células satélite, o que contribui para declínio na massa e força muscular (Cesari, Kritchevsky *et al.*, 2005). Uma estratégia para minimizar esse quadro é por meio do treinamento resistido, uma vez que o mesmo contribui para melhoras na massa corporal total, diminuição do tecido adiposo e aumento o número de fibras do tipo I e II e conseqüentemente a capacidade de gerar força e resistir a fadiga (Peterson, Bryner *et al.*, 2008; Benton, Whyte *et al.*, 2011).

Para tanto, o treinamento resistido é uma ferramenta indicada para proporcionar benefícios à saúde e qualidade de vida. Esses benefícios estão relacionados à melhora do desempenho motor, aumento da resistência à fadiga (Kraemer, Ratamess *et al.*, 2002), manutenção e aumento da massa magra, aumento no gasto calórico e na taxa metabólica de repouso e ainda contribui para um aumento no consumo de oxigênio após o exercício (Hansen, Dendale *et al.*, 2007). Como consequência, ocorre diminuição de gordura corporal, além do efeito positivo dessa modalidade de treinamento sobre a força, resistência e fadiga muscular, que são fatores relacionados com as tarefas do dia a dia. Tudo isso favorece um estilo de vida mais ativo em obesos sedentários melhorando a qualidade de vida do organismo.

O objetivo foi investigar a influência do treinamento resistido em escada e da obesidade no remodelamento tecidual dos músculos bíceps e gastrocnêmio pela análise da atividade da MMP-2 e na composição corporal de ratos. A nossa hipótese é que o treinamento resistido em escada será capaz de aumentar a atividade da MMP-2, favorecendo maior remodelamento dos músculos estudados.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1- ANIMAIS

Foram utilizados 32 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus var. albinus*, Rodentia, Mammalia) com peso inicial de aproximadamente 250 ± 30 g, obtidos do biotério da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), RJ, Brasil. Os animais foram colocados em caixas coletivas (4 ratos por caixa) a uma temperatura média de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro de 12 horas, onde receberam ração e água *ad libitum*. A ingesta de ração foi monitorada durante o período experimental. Todos os procedimentos com os animais foram conduzidos de acordo com o guia para cuidado e uso de animais de laboratórios (National Research Council, 1996). Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro – RJ, Brasil, sendo aprovada segundo parecer nº 060/2012 (anexo 1).

2.2- PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram randomicamente distribuídos em quatro grupos experimentais, Grupo Controle (C), Grupo Controle Obeso (C-Ob), Grupo Exercício Resistido (EX) e Grupo Exercício Resistido Obeso (EX-Ob).

Os animais dos grupos controle foram mantidos em suas gaiolas durante todo o período experimental do estudo sem nenhum tipo de exercício físico sistemático.

Os animais dos grupos exercício resistido foram submetidos a 12 semanas de treinamento resistido progressivo em escada.

A figura 1 apresenta um resumo do desenho experimental do estudo.

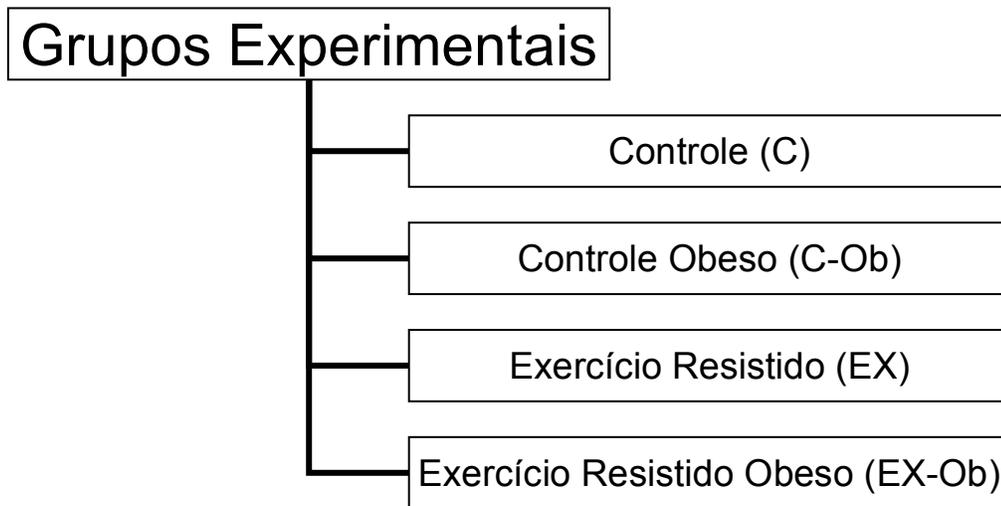


Figura 1: Desenho experimental do estudo

2.3- PROTOCOLO DE TREINAMENTO

O protocolo de treinamento resistido em escada proposto por Hornberger e Farrar, 2004 (Figura 2) foi utilizado e adaptado para as necessidades e execução deste projeto.

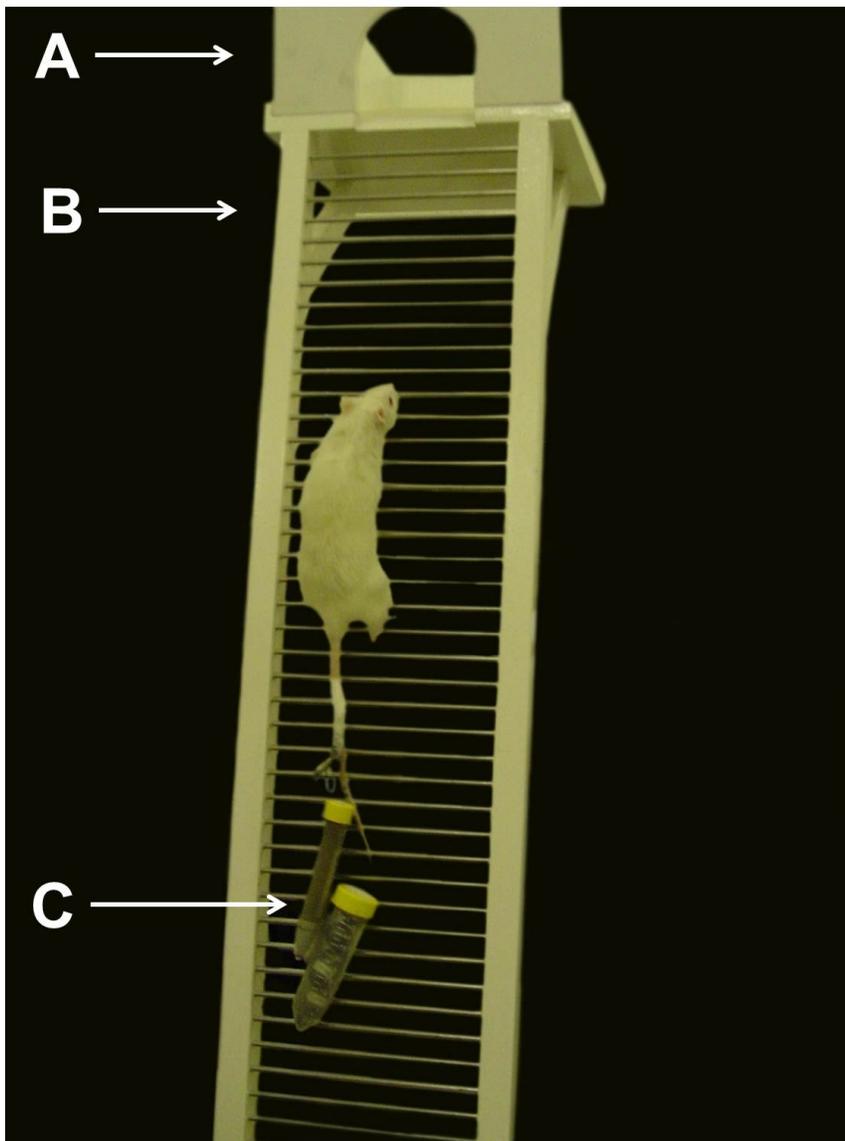


Figura 2: Escada para treinamento. A = Local de descanso após a escalada (2 minutos de descanso); B = Escada utilizada para o treinamento resistido; C = tubos falcon atado ao animal com pesos de pesca utilizados como carga de treinamento.

Inicialmente, os ratos foram adaptados ao protocolo de treinamento resistido que exigiu que os animais escalem uma escada vertical 1,10 x 0,18 m, 2 cm de espaçamento entre os degraus da grade, inclinação de 80°, com pesos atados as suas caudas. O tamanho da escada fez com que os animais realizassem de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato de carga foi atado à porção proximal da cauda com uma fita autoadesiva. Com o aparato fixado a cauda os ratos foram colocados na parte inferior da escada e familiarizados com a escalada. Caso necessário um estímulo com pinça era

aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento. No topo da escada os ratos alcançaram uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde descansaram durante 120 segundos. Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem voluntariamente escalar a escada, três vezes consecutivas, sem estímulo de pinça na cauda. Foram realizadas duas sessões de adaptação (familiarização) com intervalo de 48 horas entre as sessões (Figura 3).

Três dias após a última sessão de familiarização foi realizada a primeira sessão de treinamento que consistiu de 4 a 8 escaladas na escada com cargas progressivamente mais pesadas (Figura 4). A escalada inicial consistiu em carregar uma carga de 75% da massa corporal do animal atado em sua cauda. Após completar o carregamento desta carga inicial com sucesso, um peso adicional de 30g era adicionado ao aparato. Este procedimento foi sucessivamente repetido com um número máximo de oito escaladas, até o momento em que a sobrecarga não permitisse que o rato escalasse toda a escada. A falha em escalar foi determinada quando o animal não conseguiu progredir na subida da escada após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga carregada por toda a escada foi considerada como a capacidade máxima de carregamento (carga máxima) do rato para aquela sessão de treinamento, carga a qual, foi utilizada para a elaboração da carga de carregamento utilizada nas sessões subsequentes de treinamento.

Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado	domingo
Familiarização Sessão 1	X	Familiarização Sessão 2	X	CARGA MÁXIMA	X	X

Figura 3: Protocolo para determinação da carga máxima de carregamento. X = período de descanso.

As sessões de treinamento seguintes consistiram de quatro escalas na escada, com 65%, 85%, 95% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada previamente (Figura 4). Durante as escaladas subsequentes em um número máximo de cinco escaladas foram adicionados 30g em cada nova escalada, até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada. O intervalo de recuperação entre as escaladas foi fixo de 120 segundos.

As sessões de treino foram realizadas três vezes por semana, todas as segundas, quartas e sextas-feiras durante doze semanas. O início das sessões de treino sempre ocorreu às 15 horas.

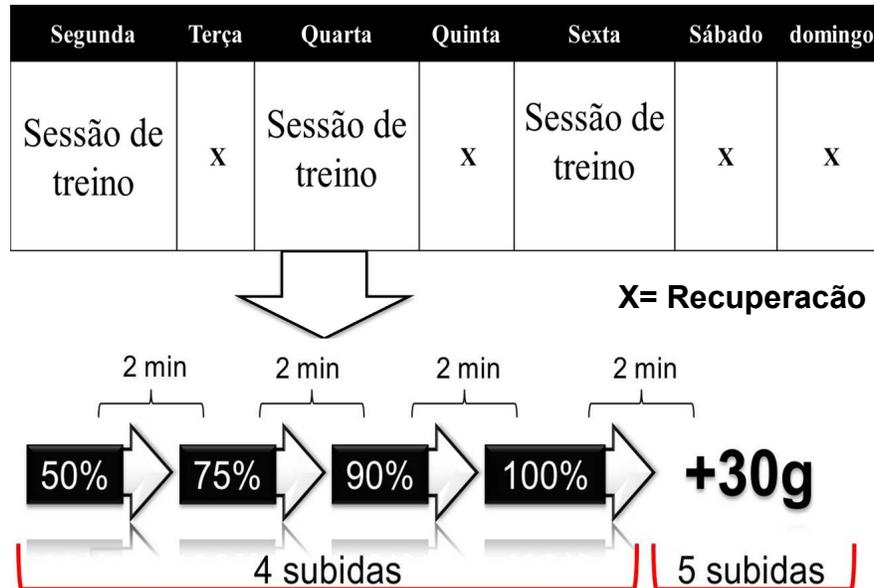


Figura 4: Protocolo do treinamento resistido

2.4- CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR E DA MASSA CORPORAL

Os grupos experimentais (C e EX) receberam uma ração padrão comercial para roedores (Nuvital, Nuvilab, PR, Brasil. Confirmar) peletizada contendo 23 gramas de proteína, 71 gramas de carboidrato, 6 gramas de gordura e 5 gramas de fibras (per %). A dieta hiperlipídica foi composta da ração comercial padrão para roedores (Nuvital, Nuvilab, Colombo PR, Brazil), gordura vegetal hidrogenada (Primor, SC, Brazil) e leite condensado (Nestlé, São Paulo, SP, Brazil). O conteúdo desta dieta foi de 15 gramas de proteína, 30 de gordura e 55 gramas de carboidrato. Os grupos experimentais C-Ob e EX-Ob receberam a ração hiperlipídica durante 12 semanas que precederam o treinamento e durante todo o período de treinamento (Pinheiro, Cunha *et al.*, 2007).

Tabela 1: Composição nutricional das dietas.

	Dieta Hiperlipídica (%)	Dieta padrão (%)
Ração Comercial ^a	60,00	100
Gordura vegetal Hidrogenada ^b	25	-
Leite Condensado ^c	15	-
Proteína	15	23
Gordura	30	6
Carboidrato	55	71
Energia (kJ/Kg)	23	17,9
Energia (kcal/g)	5,50	4,28

^a Ração padrão para ratos, Nuvital, Nuvilab, Colombo-PR; ^b Gordura vegetal hidrogenada, Primor; ^c Leite Condensado, Nestlé, São Paulo-SP, Brasil.

A ingestão alimentar (gramas de ração consumida por gaiola) foi monitorada diariamente sempre no mesmo horário do dia, entre 12h00min e 12h30min, foi definida por meio da quantidade que os animais consumiam de ração, ou seja, a subtração entre a quantidade total de ração e quantidade remanescente na caixa foi realizada três vezes por semana. E a massa corporal verificada três vezes na semana, todas as segundas, quartas e sextas-feiras sempre no mesmo horário entre 12h30min e 13h30min. Ambos os procedimentos foram realizados durante todo o período experimental.

2.5- MASSA CORPORAL E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO CORPORAL

A medida de massa corporal foi realizada semanalmente por balança eletrônica (Toledo, modelo EB 211, São Bernado do Campo-SP, Brasil). Foram realizadas medidas de composição corporal antes do início e antes da última sessão de treinamento. Os animais foram anestesiados com ketamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg) para a mensuração da composição corporal através da densitometria por dupla emissão de raio gama (DXA) (Lunar DXA 200368 GE instrument; Lunar, Wisconsin, USA). A análise das imagens foi feita através de programa específico com software -

Encore 2008, 12.20, GE Healthcare. As variáveis de composição corporal medidas foram: massa livre de gordura (g), massa gorda (g), percentual de gordura total (%) e percentual de gordura do tronco(%).

2.6- PREPARAÇÃO DO TECIDO

Os animais foram sacrificados por decapitação 48h após a última sessão de treinamento. Os músculos bíceps e gastrocnêmio esquerdo (porção medial) foram rapidamente removidos, pesados, lavados em solução salina e imediatamente congelados no nitrogênio líquido e armazenados no freezer a -80 C até o momento das análises.

Deteção da atividade enzimática da MMP-2 por Zimografia

As amostras dos músculos bíceps e gastrocnêmio esquerdos foram lavadas de 3 a 4 vezes com solução salina gelada e incubada em tampão de extração (ácido cacodílico 10 mM pH 5,0, NaCl 0,15 mM, ZnCl₂ 1 µM, CaCl₂ 20 mM, NaN₃ 1,5 mM e Triton X-100 0,01% [v/v]) a 4° C, com agitação contínua, durante 24h. Após este tempo, o tampão de extração foi coletado por centrifugação a 13.000 g por 20 minutos e o pH ajustado para 7,4 pela adição de solução concentrada de Tris em pH 8,0.

O extrato tecidual foi testado quanto a presença de atividade genatinolítica pela técnica de zimografia (Marqueti, Micocci *et al.*, 2012). As amostras foram submetidas a SDS-PAGE com gelatina (2mg/ml). Após a corrida, o gel foi lavado 2 vezes durante 20 minutos em solução 2,5% de Triton X-100 para remoção do SDS. Após a remoção do SDS o gel foi incubado em tampão de substrato (Tris-HCl 50 mM pH 8,0, CaCl₂ 5 mM e NaN₃ 0,02%) por 10 minutos. O tampão foi trocado e o gel levado para estufa a 37° C para incubação por 20 horas. Após a incubação, o gel foi corado com *Coomassie Blue* por 60 minutos, descorado com ácido acético:metanol:água (1:4:5) por 3 dias para visualização das bandas de atividade.

O extrato tecidual foi testado quanto não presença genatinolítica da MMP-2 pela mesma técnica, acrescentando em cada amostra 4 µL de EDTA a 450 mM e submetidas a SDS-PAGE com gelatina como descrito acima. No momento que o gel seria levado para incubação, foi adicionado ao tampão de incubação 3,3 ml de EDTA a 450 mM.

Após o processo de descorante, o gel foi fotografado com uma câmera Canon G6 Power Shot 7.1 mega pixels (Virginia, USA) em uma câmara escura que permitia que a câmera ficasse a 30 centímetros do gel, com incidência de luz branca por um Transluminador.

As imagens dos géis foram processadas no software *Irfan View* para Microsoft Windows, onde todas as imagens dos géis ficaram com o mesmo brilho e contraste. As médias de intensidade de banda foram mensuradas por meio do *software Gene Tools*. As bandas encontradas em todos os grupos foram de 72–62 kDa, sugerindo a atividade total da MMP-2. A banda ativa foi enfatizada de acordo com a proposta por (Marqueti, Prestes *et al.*, 2008). As imagens foram analisadas por densitometria utilizando-se o software *Image Pro-Plus*.

2.7- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. A distribuição gaussiana das variáveis foi testada pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade. Análise de variância (ANOVA) one-way foi usada para detectar diferenças entre os grupos com a aplicação subsequente do teste de post-hoc de Newman-Keuls nos eventos de razão F significativa ($p < 0,05$). Para a comparação da carga de treinamento entre os grupos treinados foi utilizado teste t de Student. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no pacote estatístico GraphPad® 5 e será usado alfa de 0,05.

3- RESULTADOS

Os grupos Controle Obeso (C-Ob) e Exercício Obeso (EX-Ob) apresentaram maior massa corporal quando comparados com os grupos Exercício Resistido (EX) e Controle (C), e, ao final do experimento, o grupo EX apresentou maior massa corporal que o grupo C, mas sem diferença estatística ($p = 0,8055$). O grupo EX-Ob apresentou menor massa corporal que o grupo C-Ob, com diferença estatística ($p = 0,0058$ - Tabela 2).

A massa do músculo bíceps foi estatisticamente maior no grupo C-Ob, quando comparado com o grupo EX ($p = 0,0042$), enquanto que a massa do gastrocnêmio foi significativamente maior no grupo C-Ob, quando comparado com o o grupo C ($p = 0,0300$) e grupo EX ($p = 0,0042$ - Tabela 2).

O perfil lipídico do músculo bíceps e gastrocnêmio do grupo C-Ob foi maior do que os dos grupos C, EX e EX-Ob. Por outro lado, o grupo EX apresentou valores menores quando comparado com os outros grupos, sem diferença estatística.

Os animais do grupo C-Ob e EX-Ob mostraram um consumo energético maior quando comparados aos dos grupos C e EX (Tabela 1). A dieta hiperlipídica aumentou a quantidade de massa gorda e diminuiu a massa magra no grupo C-Ob; esses valores foram significativamente diferentes dos encontrados nos outros grupos (C, EX e EX-Ob) ($p < 0,05$). Observa-se também que o treinamento resistido foi capaz de induzir uma diminuição significativa no percentual de gordura do grupo EX-Ob quando comparado com o grupo C-Ob ($p = 0,0136$ - Tabela 2 e Figura 5). O grupo EX apresentou menor massa gorda e maior quantidade de massa magra quando comparado com os outros grupos ($p < 0,05$ - Tabela 2 e Figura 5).

Tabela 2: Massa e composição corporal dos grupos experimentais.

	C	C-Ob	EX	EX-Ob
Massa Corporal Final	453,97 ± 14,06	566,42 ± 22,16 ^a	431,52 ± 16,83 ^b	500,32 ± 16,36 ^{a,b,c}
Massa Gastrocnêmio (g)	2.49 ± 0.10	2.57 ± 0.05 ^a	2.47 ± 0.12 ^b	2,57 ± 0.07 ^a
Conteúdo Lipídico do Gastrocnêmio (mg.100mg tecido ⁻¹)	1.31 ± 0.16	1.41 ± 0.10	1.19 ± 0.07	1.29 ± 0.09
Massa Gastrocnêmio/ Massa Corporal	0,00548 ± 0,00014	0,00460 ± 0,00023	0,00572 ± 0,00014	0,0051 ± 0,00028
Massa Bíceps (g)	0,203 ± 0,007	0,226 ± 0,007	0,213 ± 0,011 ^b	0,216 ± 0,007
Conteúdo Lipídico Bíceps (mg.100mg tecido ⁻¹)	1,60 ± 0,18	2,18 ± 0,28	1,55 ± 0,13	1,81 ± 0,28
Massa Bíceps/Massa Corporal	0,00044 ± 0,000015	0,00040 ± 0,000017	0,00049 ± 0,000016	0,00043 ± 0,00002

Valores apresentados em média ± erro padrão da média; p < 0.05 (n = 8 per grupo). C = Grupo Controle; C-Ob = Grupo Controle Obeso; EX = Grupo Exercício Resistido; EX-Ob = Grupo Exercício Resistido Obeso; a, diferença estatística comparado ao C; b, comparado ao C-Ob; c, comparado ao EX.

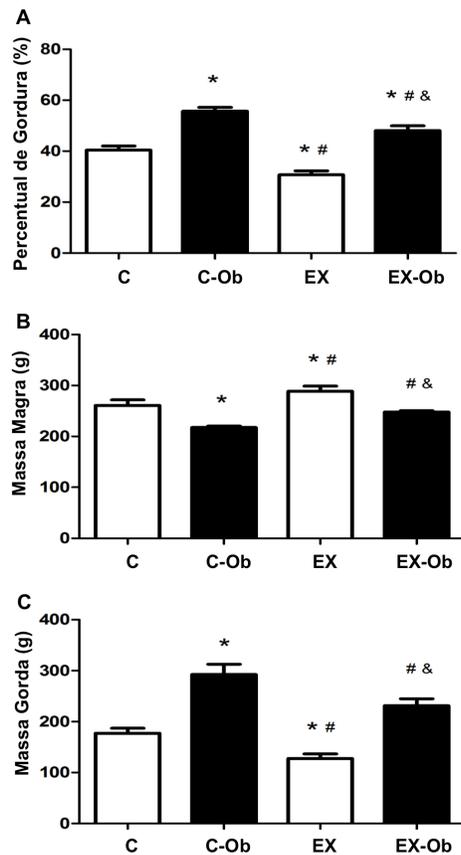


Figura 5: Efeito do treinamento resistido e dieta hiperlipídica na massa gorda (g), massa magra (g) e percentual de gordura (%). *, diferença estatística comparado ao grupo C; #, comparado ao grupo C-Ob; &, comparado ao grupo EX.

A figura 6 apresenta a evolução temporal da carga de treinamento. A carga de treinamento não apresentou diferença entre os grupos treinados (EX e EX-Ob) durante as 12 semanas de treinamento. Entretanto, nas duas primeiras semanas o grupo EX-Ob apresentou maior carga de treinamento, com diferença estatística ($p = 0,0100$). Por outro lado, a força relativa (carga de carregamento/massa corporal) foi estatisticamente maior no grupo EX ($p = 0,0041$) (Figura 7).

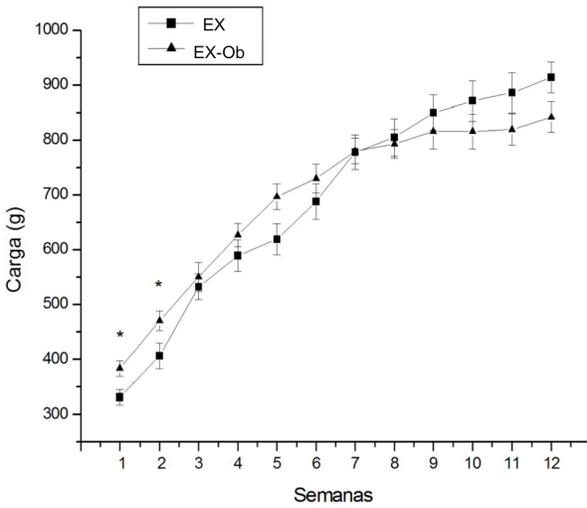


Figura 6: Evolução temporal da carga de treinamento. TF = grupo EX; TF-Ob= grupo EX-Ob * diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

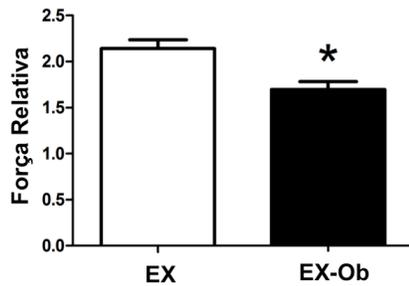
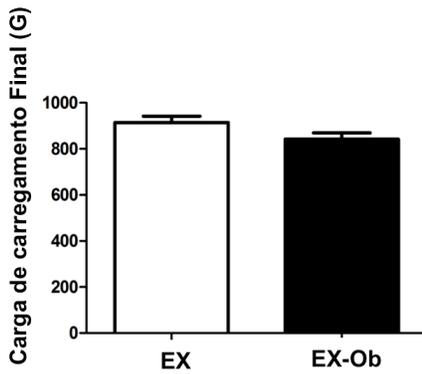


Figura 7: Força Relativa (carga de carregamento/massa corporal) durante o período experimental. Valores apresentados em média \pm erro padrão da $p < 0.05$ ($n = 8$ per grupo). *, diferença estatística comparado ao grupo EX.

O grupo EX mostrou maior atividade da MMP-2 quando comparado com o grupo C no músculo bíceps ($p = 0,0343$), mas não houve diferenças entre os grupos C-Ob e EX-Ob (Figura 8)

A atividade da MMP-2 no gastrocnêmio foi maior no grupo EX-Ob quando comparado com os grupos C ($p = 0,0074$) e C-Ob ($p = 0,0012$). Não houve diferença estatística entre os grupos EX-Ob e EX (Figura 9).

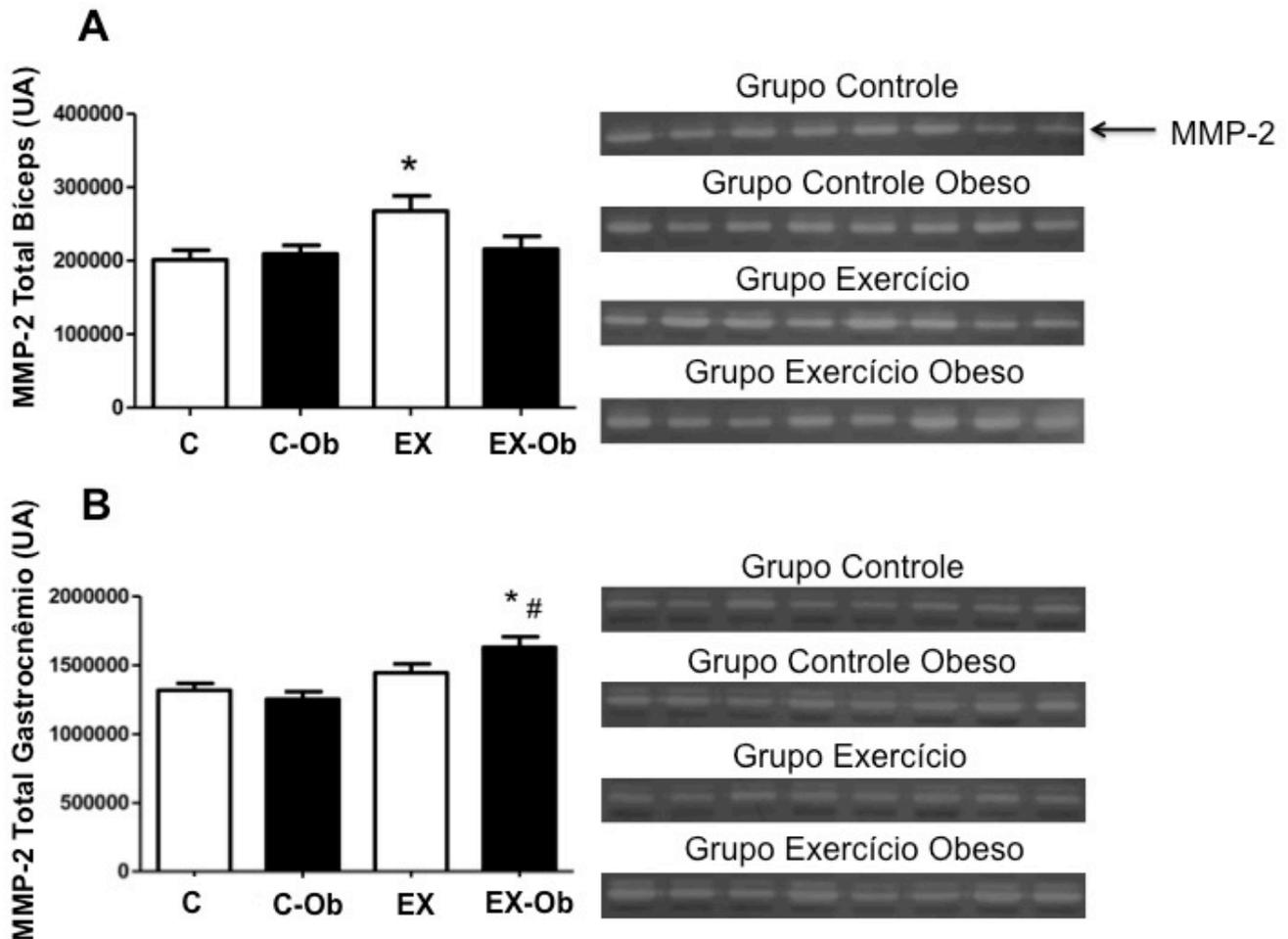


Figura 8: Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica na atividade da metaloproteinases 2 (MMP-2), A: atividade total da MMP-2 (soma das formas pró, intermediária e ativa) no músculo bíceps e gastrocnêmio. Valores expressos em unidades arbitrárias (UA) com média \pm erro padrão da média ($p < 0.05$). a, diferente do grupo C; b, diferente do grupo C-Ob; c, diferente do grupo EX-Ob.

4- DISCUSSÃO

Nossa proposta foi investigar o efeito da obesidade e do treinamento resistido em escada na atividade da MMP-2 nos músculos bíceps e gastrocnêmio de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Interessantemente, o treinamento resistido foi capaz de aumentar a atividade da MMP-2, aumentar a massa muscular e diminuir a massa gorda em ambos os grupos treinados.

Ressalta-se em nosso estudo, que a atividade da MMP-2 dos grupos treinados foi maior quando comparado com todos os outros grupos. Esse resultado também foi observado em estudos anteriores (Marqueti, Parizotto *et al.*, 2006; Prestes, De Cassia Marqueti *et al.*, 2009) que demonstraram a interação entre o treinamento resistido e o aumento da atividade da MMP-2 nos músculos gastrocnêmio e sóleo. Os fatores que podem ter contribuído nessa interação são: aumento na carga de treinamento (massa corporal + carga de treinamento), maior estímulo de migração das células satélites para o ponto da lesão e liberação de citocinas pró-inflamatórias (Cesari, Kritchevsky *et al.*, 2005).

A célula muscular possui uma lâmina basal com função de suporte estrutural, que é importante na manutenção da integridade fisiológica das miofibrilas. Essa lâmina serve também como barreira eletrolítica e atua no reparo das fibras musculares após as lesões ocasionadas pela sobrecarga imposta pelo exercício (Carmeli, Moas *et al.*, 2004). Entretanto, as MMPs em conjunto com seus inibidores no músculo esquelético desempenham funções fisiológicas fundamentais na manutenção da MEC (Kjaer, Langberg *et al.*, 2009). As MMPs estão submergidas numa vasta faixa de processos funcionais, patológicos e de desenvolvimento no músculo. Essas enzimas são capazes de regular o crescimento muscular, pois liberam fatores de crescimento locais e atuam no reparo do tecido após lesões (Kjaer, Magnusson *et al.*, 2006). As MMPs, por possuírem papel central na manutenção e remodelamento da MEC, são capazes de estimular células quiescentes, denominadas de células satélites (Yamada, Tatsumi *et al.*, 2006). Uma vez ativadas, esse grupo de células migram para os pontos de lesão, onde se fundem umas as outras ou as fibrilas lesadas, permitindo a regeneração do tecido (Chen e Li, 2009). Kurosaka *et al.*, (2012) e Malatesta *et al.*, (2011) evidenciaram que ocorre ativação das células satélites em exercício de endurance e resistido de alta intensidade, respectivamente.

Estudos recentes demonstram que o aumento da adiposidade também pode acelerar o remodelamento tecidual, uma vez que há forte relação entre adipócitos e macrófagos, que favorece a liberação de citocinas pró-inflamatórias como a Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6) e Fator de

Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (Cesari, Kritchevsky *et al.*, 2005). Essas citocinas pró-inflamatórias estimulam fatores que beneficiam a síntese de colágeno, como a quinase ativada por mitógeno (MAPK), responsável pela manutenção do turnover tecidual. Por outro lado também estimulam a síntese da MMP-2, que frente a estímulos mecânicos, degradam colágeno e favorecem o remodelamento da MEC (Kjaer, 2004; Coletta e Mandarino, 2011).

Outro resultado esperado observado ocorreu na massa corporal dos animais avaliada por meio do DXA. Os animais controles e obesos apresentaram valores de massa corporal, massa gorda e percentual de gordura significativamente maiores e valores de massa magra significativamente menores quando comparado aos demais grupos. Somando-se a esses resultados, também o conteúdo lipídico dos músculos bíceps e gastrocnêmio apresentou valores maiores, porém sem diferença estatística. Esses dados, conjuntamente avaliados, demonstram que a obesidade desenvolvida pelos ratos provocou diminuição da massa muscular (sarcopenia) e acúmulo de gordura (obesidade), inclusive nos músculos estudados (obesidade sarcopênica).

O aumento do tecido adiposo é um dos fatores preponderantes nas alterações do perfil inflamatório sistêmico, no desenvolvimento da hipertensão arterial, e marcadamente sarcopenia (Carmeli, Moas *et al.*, 2005; Speretta, Rosante *et al.*, 2012; Tamilarasan, Temmel *et al.*, 2012). Cesari *et al.*, (2005) mostraram que as citocinas pró-inflamatórias provenientes do tecido adiposo como IL-1, IL-6 e TNF- α estão relacionados com a diminuição na massa muscular, sarcopenia, bem como no aumento do tecido adiposo. Ademais, essas citocinas estão fortemente relacionadas com a deposição de gordura. O processo inflamatório refletido pela atividade das citocinas pró-inflamatórias representam estímulos catabólicos, que na ausência de um ambiente anabólico (ocasionados por inatividade física e dieta inadequada) são fatores chaves para o desenvolvimento da sarcopenia e obesidade sarcopênica (Payette, Roubenoff *et al.*, 2003; Benton, Whyte *et al.*, 2011). O desequilíbrio entre massa muscular e obesidade, favorece o declínio funcional, aumento de fatores de riscos para doenças cardiovasculares, bem como para o aumento dos índices de mortalidade em obesos (Cesari, Kritchevsky *et al.*, 2005).

Nesse aspecto acima abordado os animais do grupo EX-Ob apresentaram valores de massa corporal e massa gorda significativamente menores e valores de massa magra significativamente maiores quando comparado com os animais do grupo C-Ob. Esse resultado demonstra que o exercício resistido proposto foi efetivo em atenuar os efeitos deletérios da obesidade sobre a massa corporal e o tecido muscular. A melhora na composição corporal se deve ao gasto energético, durante e após a

sessão de treinamento, e o aumento da massa magra, com conseqüente elevação da taxa metabólica basal, maior gasto calórico e maior oxidação de gorduras, durante e após a sessão de treinamento (American College of Sports, 2009). É importante salientar que a força muscular desse grupo, analisada por meio da carga máxima de carregamento, foi semelhante ao do grupo EX durante todo o período de treinamento. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios realizados com ratos obesos (Speretta, Rosante *et al.*, 2012) e ratas obesas ovariectomizadas (Pereira, Prestes *et al.*, 2010; Shiguemoto, Prestes *et al.*, 2012), que apresentaram evolução na carga de carregamento semelhante à esse estudo. Leite *et al.*, (2009) analisando o perfil lipídico de ratas ovariectomizadas submetidas ao treinamento resistido, demonstraram que esse estímulo é um meio eficiente para diminuir o perfil lipídico corporal total. Benton *et al.*, (2011) apresentam como estratégia para o tratamento da obesidade sarcopênica em humanos o exercício resistido, uma vez que esse tipo de exercício é capaz de aumentar a taxa metabólica basal, gerando dessa forma, balanço energético positivo.

Juntamente com a obesidade, o sedentarismo também está associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, sarcopenia, dentre outras, uma vez que a inatividade física impossibilita a melhora nos índices relacionados à saúde, bem como na composição corporal. Isso pode ser notado nos animais do grupo C que apresentaram massa corporal e massa gorda significativamente maiores e valores de massa magra menores quando comparado com os animais do grupo EX, indicando que o treinamento resistido proposto pode ser uma maneira eficiente para melhorar a composição corporal. Esses resultados foram semelhantes aos apresentados por Panveloski-Costa *et al.* (2011), que induziram a obesidade com dieta hiperlipídica em ratos Wistar e observaram que os animais do grupo controle quando comparado com os do grupo exercitado apresentaram maiores valores de peso corporal e massa adiposa periepididimal.

Os benefícios do exercício físico ainda podem ser observados na capacidade dos animais em responder aos estímulos de força impostos pelo treinamento proposto. A carga de carregamento máxima (em valores absolutos) dos animais do grupo EX e do grupo EX-Ob não apresentaram diferença significativa, no entanto, quando analisado a força relativa (massa corporal/carga carregamento máxima), os animais do grupo EX apresentaram valores estatisticamente maiores. Esses resultados indicam que as mudanças no consumo energético induzidas por meio da dieta hiperlipídica diminuem a capacidade física e a capacidade de remodelamento do músculo, afetando assim, a força contrátil, mostrando que os animais sem dieta hiperlipídica possuem maior capacidade de gerar força

durante o treinamento.

Diante dessa perspectiva acima mencionada, a obesidade sarcopênica favorece diminuição na força e função muscular. Em geral, o desequilíbrio no metabolismo ocasionado pelo sedentarismo e dieta inadequada são aspectos chaves para desenvolver a obesidade sarcopênica, pois geram diminuição na força muscular, comprometimento funcional e fragilidade física em humanos (Benton, Whyte *et al.*, 2011). A obesidade sarcopênica, portanto, interfere negativamente na proliferação e diferenciação das células satélites musculares, responsáveis pelo processo de hipertrofia do músculo esquelético (Adams, 2006).

Peterson *et al.*, (2008) observaram em ratos Zucker com síndrome metabólica, que ocorre diminuição da proliferação e diferenciação das células satélites, devido ao aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias que contribuem para o desequilíbrio no metabolismo proteico; essa diminuição favorece o catabolismo do tecido muscular, contribuindo para uma menor capacidade de gerar força. Em humanos, está estabelecido que as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) representam um estímulo catabólico que continua pelo decorrer da vida. Esse estímulo catabólico, associado à ausência de um ambiente anabólico (sedentarismo e ingestão inadequada de nutrientes), são fatores chaves para diminuição da massa magra durante o envelhecimento em homens e mulheres (Benton, Whyte *et al.*, 2011). Kosek *et al.*, (2006) utilizaram o treinamento resistido durante 12 semanas, com 2 ou 3 sessões por semana, como estratégia para o aumento da hipertrofia e da área de secção transversa das fibras do tipo I e II, com isso observaram melhora na capacidade intrínseca de endurance e força do tecido muscular. Por fim, o controle energético e proteico na alimentação também contribui para a prevenção do aumento de massa gorda e perda de massa muscular. Além disso, o treinamento resistido tem sido utilizado como estratégia para minimizar os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica, uma vez que o aumento de massa muscular tem sido inversamente relacionado com os efeitos negativos da dieta hiperlipídica.

5- CONCLUSÃO

O treinamento resistido promoveu mudanças importantes na composição corporal, atividade da MMP-2 nos músculos bíceps e gastrocnêmio, na adiposidade e na capacidade de carregamento de

carga, podendo ser considerado uma ferramenta contra os efeitos deletérios induzidos pelo consumo de uma dieta hiperlipídica associado ao sedentarismo.

6- LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Ausência de análises das citocinas pró-inflamatórias, que poderiam auxiliar na explicação dos mecanismos envolvidos na maior ativação da MMP-2. Ausência de análises na diferenciação e migração das células satélites, bem como análises da área de secção transversa dos músculos estudados, afim de explicar o aumento da massa muscular nos grupos treinados. Por fim, não ter realizado a medida da composição corporal pelo DXA durante o treinamento, visando acompanhar as modificações impostas pela dieta hiperlipídica e o treinamento aos animais.

7- REFERÊNCIAS

ADAMS, G. R. Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 31, n. 6, p. 782-90, Dec 2006. ISSN 1715-5312 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17213900> >.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, M. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 3, p. 687-708, Mar 2009. ISSN 1530-0315 (Electronic) 0195-9131 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19204579> >.

BAUMGARTNER, R. N. Body composition in healthy aging. **Ann N Y Acad Sci**, v. 904, p. 437-48, May 2000. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10865787> >.

BENTON, M. J.; WHYTE, M. D.; DYAL, B. W. Sarcopenic obesity: strategies for management. **Am J Nurs**, v. 111, n. 12, p. 38-44; quiz 45-6, Dec 2011. ISSN 1538-7488 (Electronic)

0002-936X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22082499> >.

CARMELI, E. et al. High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. **Exp Physiol**, v. 90, n. 4, p. 613-9, Jul 2005. ISSN 0958-0670 (Print)

0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15833756> >.

CARMELI, E. et al. Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: a brief review. **Muscle Nerve**, v. 29, n. 2, p. 191-7, Feb 2004. ISSN 0148-639X (Print)

0148-639X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14755482> >.

CESARI, M. et al. Sarcopenia, obesity, and inflammation--results from the Trial of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors study. **Am J Clin Nutr**, v. 82, n. 2, p. 428-34, Aug 2005. ISSN 0002-9165 (Print)

0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16087989> >.

CHEN, X.; LI, Y. Role of matrix metalloproteinases in skeletal muscle: migration, differentiation, regeneration and fibrosis. **Cell Adh Migr**, v. 3, n. 4, p. 337-41, Oct-Dec 2009. ISSN 1933-6926 (Electronic)

1933-6918 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19667757> >.

COLETTA, D. K.; MANDARINO, L. J. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance from the outside in: extracellular matrix, the cytoskeleton, and mitochondria. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 301, n. 5, p. E749-55, Nov 2011. ISSN 1522-1555 (Electronic)

0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21862724> >.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annu Rev Immunol**, v. 29, p. 415-45, 2011. ISSN 1545-3278 (Electronic)

0732-0582 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21219177> >.

HANSEN, D. et al. The effects of exercise training on fat-mass loss in obese patients during energy intake restriction. **Sports Med**, v. 37, n. 1, p. 31-46, 2007. ISSN 0112-1642 (Print) 0112-1642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17190534> >.

HEBER, D. An integrative view of obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 1, p. 280S-283S, Jan 2010. ISSN 1938-3207 (Electronic) 0002-9165 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19923373> >.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004. ISSN 1066-7814 (Print) 1066-7814 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15001801> >.

KJAER, M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. **Physiol Rev**, v. 84, n. 2, p. 649-98, Apr 2004. ISSN 0031-9333 (Print) 0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15044685> >.

KJAER, M. et al. From mechanical loading to collagen synthesis, structural changes and function in human tendon. **Scand J Med Sci Sports**, v. 19, n. 4, p. 500-10, Aug 2009. ISSN 1600-0838 (Electronic) 0905-7188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19706001> >.

KJAER, M. et al. Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise. **J Anat**, v. 208, n. 4, p. 445-50, Apr 2006. ISSN 0021-8782 (Print) 0021-8782 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16637870> >.

KOSEK, D. J. et al. Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. **J Appl Physiol**, v. 101, n. 2, p. 531-44, Aug 2006. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16614355> >.

KOSKINEN, S. O. et al. Acute exercise induced changes in rat skeletal muscle mRNAs and proteins regulating type IV collagen content. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 280, n. 5, p. R1292-300, May 2001. ISSN 0363-6119 (Print)

0363-6119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11294746> >.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A.; FRENCH, D. N. Resistance training for health and performance. **Curr Sports Med Rep**, v. 1, n. 3, p. 165-71, Jun 2002. ISSN 1537-890X (Print)

1537-890X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12831709> >.

KUROSAKA, M. et al. Satellite cell pool enhancement in rat plantaris muscle by endurance training depends on intensity rather than duration. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 205, n. 1, p. 159-66, May 2012. ISSN 1748-1716 (Electronic)

1748-1708 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22040028> >.

LEITE, R. D. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 34, n. 6, p. 1079-86, Dec 2009. ISSN 1715-5312 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20029517> >.

MALATESTA, M. et al. Physical training modulates structural and functional features of cell nuclei in type II myofibers of old mice. **Rejuvenation Res**, v. 14, n. 5, p. 543-52, Oct 2011. ISSN 1557-8577 (Electronic)

1549-1684 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21978085> >.

MARQUETI, R. C. et al. Nandrolone inhibits MMP-2 in the left ventricle of rats. **Int J Sports Med**, v. 33, n. 3, p. 181-5, Mar 2012. ISSN 1439-3964 (Electronic)

0172-4622 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22290321> >.

MARQUETI, R. C. et al. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metallopeptidase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. **Am J Sports Med**, v. 34, n. 8, p. 1274-80, Aug 2006. ISSN 0363-5465 (Print)

0363-5465 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16636352> >.

MARQUETI, R. C. et al. MMP-2, jumping exercise and nandrolone in skeletal muscle. **Int J Sports Med**, v. 29, n. 7, p. 559-63, Jul 2008. ISSN 0172-4622 (Print)

0172-4622 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18050056> >.

MATSAKAS, A.; NARKAR, V. A. Endurance exercise mimetics in skeletal muscle. **Curr Sports Med Rep**, v. 9, n. 4, p. 227-32, Jul-Aug 2010. ISSN 1537-8918 (Electronic)

1537-890X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20622541> >.

PANVELOSKI-COSTA, A. C. et al. [Resistive training reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity in obese rats induced by hyperlipidic diet]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 55, n. 2, p. 155-63, Mar 2011. ISSN 1677-9487 (Electronic)

0004-2730 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21584433> >.

PAYETTE, H. et al. Insulin-like growth factor-1 and interleukin 6 predict sarcopenia in very old community-living men and women: the Framingham Heart Study. **J Am Geriatr Soc**, v. 51, n. 9, p. 1237-43, Sep 2003. ISSN 0002-8614 (Print)

0002-8614 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12919235> >.

PEREIRA, G. B. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in rat calcaneal tendon. **Connect Tissue Res**, v. 51, n. 6, p. 459-66, Dec 2010. ISSN 1607-8438 (Electronic)

0300-8207 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20388014> >.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol**, v. 98, n. 4, p. 1154-62, Apr 2005. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15772055> >.

PETERSON, J. M.; BRYNER, R. W.; ALWAY, S. E. Satellite cell proliferation is reduced in muscles of obese Zucker rats but restored with loading. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 295, n. 2, p. C521-8, Aug 2008. ISSN 0363-6143 (Print)

0363-6143 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18508911> >.

PINHEIRO, A. R. et al. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 17, n. 5, p. 365-75, Jun 2007. ISSN 1590-3729 (Electronic)

0939-4753 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17008074> >.

PRESTES, J. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 34, n. 4, p. 700-6, Aug 2009. ISSN 1715-5312 (Print).

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19767806> >.

ROUBENOFF, R. Sarcopenic obesity: does muscle loss cause fat gain? Lessons from rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Ann N Y Acad Sci**, v. 904, p. 553-7, May 2000. ISSN 0077-8923 (Print)

0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10865804> >.

SHIGUEMOTO, G. E. et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scand J Med Sci Sports**, v. 22, n. 5, p. 607-17, Oct 2012. ISSN 1600-0838 (Electronic)

0905-7188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21362057> >.

SPERETTA, G. F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 67, n. 12, p. 1469-77, Dec 2012. ISSN 1980-5322 (Electronic)

1807-5932 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23295603> >.

STAMENKOVIC, I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. **J Pathol**, v. 200, n. 4, p. 448-64, Jul 2003. ISSN 0022-3417 (Print)

0022-3417 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12845612> >.

TAMILARASAN, K. P. et al. Skeletal muscle damage and impaired regeneration due to LPL-mediated lipotoxicity. **Cell Death Dis**, v. 3, p. e354, 2012. ISSN 2041-4889 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22825472> >.

VIEIRA, V. J. et al. Effects of exercise and low-fat diet on adipose tissue inflammation and metabolic complications in obese mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 296, n. 5, p. E1164-71, May 2009. ISSN 0193-1849 (Print)

0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19276393> >.

WATERS, D. L.; BAUMGARTNER, R. N. Sarcopenia and obesity. **Clin Geriatr Med**, v. 27, n. 3, p. 401-21, Aug 2011. ISSN 1557-8623 (Electronic)

0749-0690 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21824555> >.

YAMADA, M. et al. Matrix metalloproteinases are involved in mechanical stretch-induced activation of skeletal muscle satellite cells. **Muscle Nerve**, v. 34, n. 3, p. 313-9, Sep 2006. ISSN 0148-639X (Print)

0148-639X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16810685> >.

8- ANEXO I



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCANTARA GOMES



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **CEUA/060/2012** sobre “**Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica**”, sob a responsabilidade de **Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em **11/10/2012**. Este certificado expira em **11/10/2016**.

Rio de Janeiro, 11 de Outubro de 2012.

Profa. Patricia Cristina Lisboa
CEUA/IBRAG/UERJ

Prof. Israel Felzenszwalb
CEUA/IBRAG/UERJ

Profª Dra. Patricia Cristina Lisboa da Silva
Profª Adj. do Depto. Ciências Fisiológicas / IBRAG / UERJ
Matricula 34765-8

/ass