

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA
DA MMP-2 E ANTIOXIDANTES NO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS
OBESOS.**

Anderson Diogo de Souza Lino

SÃO CARLOS – SP

2013

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA
DA MMP-2 E ANTIOXIDANTES NO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS
OBESOS.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA
DA MMP-2 E ANTIOXIDANTES NO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS
OBESOS.**

Anderson Diogo de Souza Lino

**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: FISILOGIA.**

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Garcia
de Oliveira Duarte**

SÃO CARLOS – SP

2013

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

L758et

Lino, Anderson Diogo de Souza.

Efeito do treinamento resistido sobre a atividade enzimática da MMP-2 e antioxidantes no ventrículo esquerdo de ratos obesos / Anderson Diogo de Souza Lino. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
105 f.

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

1. Fisiologia do exercício físico. 2. Treinamento resistido. 3. Remodelamento do ventrículo esquerdo. 4. Metaloproteinase (MMP-2). 5. Obesidade. 6. Estresse oxidativo. I. Título.

CDD: 612.04 (20^a)

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

Folha de Aprovação

Dissertação de Mestrado de Anderson Diogo de Souza Lino

Dia 22/03/2013

Profª. Drª. Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte.....

Prof. Dr. João Luiz Quagliotti Durigan.....

Prof. Dr. Gerson Jhonatan Rodrigues.....

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus amados pais **Maria aparecida Diogo Lino** e **Neube de Souza Lino** por terem me educado e ter me ensinado que para cada vez que se levanta de um tombo, mais forte eu me tornaria. E por acreditar junto comigo nos meus ideais e mesmo com a distância nunca me deixaram fraquejar nos momentos difíceis. Agradeço todo o apoio que me deram em todos os caminhos que percorri.

Ao meu querido irmão **Neube de Souza Lino Júnior** pelo apoio, as conversas, incentivo e a amizade.

À minha noiva **Noele Paschoine Leão** que sempre esteve ao meu lado, me ajudando a realizar meus objetivos, mesmo com a minha ausência física durante alguns períodos esteve sempre ao meu lado, ajudando e me mostrando que a vida juntos pode ser mais feliz.

Ao paião da natação **Henrique Carvalhaes Teixeira** que me ensinou a ser o profissional que sou, sem sua ajuda eu jamais teria chegado até aqui.

Aos meus irmãos de coração **Richard Diego Leite, Guilherme Fleury F. Speretta, Guilherme Borges Pereira, Jonato Prestes e Markus Vinícius Campos Souza** pelo convívio neste período, por enfrentarem junto comigo todos os obstáculos no caminho e pela oportunidade de fazer desse convívio uma grande família.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Por meio desta singela homenagem, agradeço à Professora Dra. **Ana Cláudia Garcia de Oliviera Duarte** pelo acolhimento em seu laboratório, pela sua vivacidade, alegria e seriedade com que sempre foi tratado.

Aos Professores **Vilmar Baldissera, Sérgio Eduardo De Andrade Perez, Gilberto Eiji Shiguemoto Gilberto Moraes e Heloisa e Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo.**

Obrigado pelas oportunidades oferecidas, por despertar em mim a vontade de sempre alcançar o conhecimento. Obrigado pelo crescimento científico e didático, os momentos de conversas e principalmente por me mostrarem a emoção da viagem pela ciência.

SEREI ETERNAMENTE GRATO A VOCÊS.

MUITO OBRIGADO!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, Nossa Senhora Pararecida e a Jesus Cristo, por sempre me rodear de pessoas fantásticas, pelo dom maior da vida, pela saúde, inteligência e perseverança.

Aos meus pais Marai Ap. Diogo Lino e Neube de Souza Lino, e meu irmão Neube de Souza Lino Júnior, pelo carinho, compreensão e apoio.

À minha Noiva Noele Paschoine Leão pela ajuda, compreensão, apoio e acolhimento em sua vida.

Aos irmãos de ciência e coração, Guilherme F. F. Speretta, Marisa Cristina Rosante, Richard Diego Leite, Jonato Prestes, apoio na construção deste trabalho.

Aos irmão de coração Guilherme Borges Pereira, Markus Vinicius Campos Souza e Rodrigo Ferro Magosso pelos ensinamentos e amizade.

Aos amigos Antonio Eduardo de Aquino Júnior, Marcela Sene-Fiorese, Fernanda de Oliveira Duarte, Jorge Oishi Júnior, Diego Adorna Marine, Amilton Vieira, João Guilherme pelos fofatos gostos juntos nos estudos.

À Professora Dra. Ana Claudia G. O. Duarte, pela dupla oportunidade oferecida com a abertura da vaga para o mestrado.

A todos os PROFESSORES (as) que fizeram parte da minha formação.

Aos amigos e parceiros Fernando Fabrizzi e Fernanda Moraes pela imensa ajuda e paciência neste projeto.

Aos Técnicos de laboratório José Alves da Silva e Cacau pela disponibilidade em ajudar, os ensinamentos no Laboratório e as histórias sempre engraçadas.

A professora Heloísa Sobreiro Selistre de Araújo, João Durigan, Ana Belle e Carmen Lucia Salla Pontes pela oportunidade convívio e de participar e vivenciar o dia a dia do laboratório.

Ao meu exemplo de pesquisadora e pessoa Rita de Cássia Marqueti Durigan que me ensinou muito sobre ... tudo.

Aos amigos de Laboratório pela convivência e histórias durante este período. Nuno, Vivian, Luciane, Matheus, José Neto, Danilo, Charles, Marina, Aracelli, Paty, Patrícia, Carol, Kelly, Nathalia, Márcia, José e Vinícius.

Aos amigos que mesmo não presentes durante este período contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

A todos de todos os laboratórios que me ensinaram muito sobre fisiologia.

MUITÍSSIMO GRATO A TODOS!!!

EPÍGRAFE

“A maior viagem que o homem pode fazer é a viagem pelo **conhecimento**”!

(Anderson Lino)

“Não se pode ensinar alguma coisa a um homem; apenas ajudá-lo a encontrá-la dentro de si mesmo”!

(Galileu Galilei)

RESUMO

Introdução: A obesidade está associada com aumento da peroxidação lipídica no miocárdio e com uma maior suscetibilidade ao dano oxidativo, o que pode levar a vários fatores de risco cardiovascular incluindo insuficiência cardíaca, resistência à insulina, hipertensão e dislipidemia. O ONOO⁻ em conjunto com níveis normais intracelular de glutathiona reduzida (GSH), são responsáveis, dentre outros fatores, por ativar as metaloproteinases de matriz (MMPs), que são importantes na mediação dos efeitos deletérios de doenças cardiovasculares. A atividade desregulada das MMPs, como a MMP-2, pode favorecer o desenvolvimento de doenças cardíacas. O treinamento resistido (TR) pode amenizar ou mesmo reverter o quadro de obesidade, prevenir contra a peroxidação lipídica, aumentando os níveis das enzimas antioxidantes, melhora do perfil lipídico, diminui os riscos à doenças cardiovasculares, além de reduzir a concentração de fibrose e a desregulação da MMP-2. **Objetivo:** Analisar os efeitos do TR de alta intensidade em escada associado à dieta hiperlipídica na atividade da MMP-2 e enzimas antioxidantes (SOD Total, Mn-SOD, CAT, GPx), GSH e peroxidação lipídica, relacionadas ao remodelamento do ventrículo esquerdo, em ratos. **Metodologia:** 60 ratos Wistar foram utilizados neste estudo, sendo este dividido em três fases: 1) período de três semanas de indução à obesidade, grupo controle alimentado com dieta padrão (CT-P n= 30) e controle alimentado com dieta hiperlipídica (CT-H n= 30); 2) efeito da dieta hiperlipídica por mais oito semanas, grupo sedentário dieta padrão (SED-P n= 10) e sedentário dieta hiperlipídica (SED-H n= 10); 3) efeito do TR em escada por oito semanas associado a dieta hiperlipídica, grupo TR dieta padrão (TR-P n= 10) e TR dieta hiperlipídica (TR-H n= 10). **Resultados:** As três semanas de indução à obesidade foi eficaz em promover aumento da massa corporal ($p < 0,05$), massa do VE ($p < 0,05$) e da atividade da MMP-2 ($p < 0,001$), do TBRs ($p < 0,03$) e de diminuir a atividade da citrato sintase ($p < 0,05$) no grupo CT-H. Após mais oito semanas de dieta hiperlipídica, o grupo SED-H teve a massa corporal maior ($p < 0,02$) comparado ao SED-P. Já a massa do VE para o grupo SED-H foi maior em comparação ao do CT-H ($p < 0,001$), porém não se modificou quando comparado ao SED-P. Houve uma menor atividade da MMP-2 ($p < 0,05$) no grupo SED-H comparado ao CT-H. Foi observado acúmulo de lipídios totais ($p < 0,007$) no VE do grupo SED-H comparado ao CT-H. O maior tempo de vida associado à dieta hiperlipídica promoveu inibição da SOD Total ($p < 0,01$) e Mn-SOD ($p < 0,002$) (SED-H), e aumento da GSH ($p < 0,004$). O TR foi eficaz em atenuar o ganho de massa corporal no grupo TR-H comparado ao SED-H, mesmo sendo maior comparado ao TR-P ($p < 0,005$). No grupo TR-H a atividade da MMP-2 foi maior ($p < 0,03$) comparado ao TR-P, porém menor ($p < 0,04$) comparado ao SED-H. O TR promoveu maior atividade das enzimas citrato sintase ($p < 0,03$), SOD Total ($p < 0,001$) e Mn-SOD ($p < 0,03$) menor atividade da GSH ($p < 0,01$) no grupo TR-H. Não foi observado aumento significativo do TBARS no VE do TR-H. Contudo, foi observado aumento do conteúdo lipídico ($p < 0,04$). **Conclusão:** Concluímos que o TR de alta intensidade, em ratos obesos, pode ser uma ferramenta não farmacológica capaz de modular de forma positiva a atividade da MMP-2 e de algumas enzimas antioxidantes como a SOD Total, Mn-SOD e a GSH. Efeitos esses que são importantes para a manutenção da saúde cardíaca, amenizando os efeitos deletérios relacionados à obesidade sobre o remodelamento do ventrículo esquerdo, de forma experimental.

Palavras-chave: Treinamento resistido, remodelamento do ventrículo esquerdo, dieta hiperlipídica, obesidade, MMP-2, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is associated with increased lipid peroxidation in the myocardium and an increased susceptibility to oxidative damage, which can lead to several cardiovascular risk factors including heart failure, insulin resistance, hypertension and dyslipidemia. The ONOO⁻ in conjunction with normal intracellular levels of reduced glutathione (GSH), are responsible, among other factors, to activate the matrix metalloproteinases (MMPs) that are important in mediating the deleterious effects of cardiovascular diseases. The unregulated activity of MMPs, such as MMP-2, may promote the development of heart disease. Resistance training (RT) can mitigate or even reverse the obesity, prevent against lipid peroxidation, increasing the levels of antioxidant enzymes, improved lipid profile, reduced cardiovascular risk and reduce the concentration of fibrosis and dysregulation of MMP-2. **Purpose:** To analyze the effects of RT high intensity on ladder associated with high fat diet on the activity of MMP-2 and antioxidant enzymes (SOD Total, Mn-SOD, CAT, GPx), GSH and lipid peroxidation, related to left ventricle remodeling in rats. **Methods:** 60 rats Wistar were used in this study, which was divided into three phases: 1) three week period of obesity induction, control group fed with standard diet (CT-S n = 30) and control group fed with high fat diet (CT-H n = 30); 2) effect of fat diet for eight weeks, sedentary standard diet group (SED-S n = 10) and high fat diet sedentary (SED-H n = 10), 3) effect of high-intensity RT on ladder for eight weeks associated with high-fat diet, RT standard diet (RT-S n = 10) and RT high-fat diet RT (RT-H n = 10). **Results:** The three-week obesity induction was effective in promoting the group CT-H increased body mass (p <0.05), LV mass (p <0.05) and activity of MMP-2 (p <.001), TBARS (p <0.03) and decrease the citrate synthase activity (p <0.05). After eight weeks of high fat diet, the SED-H group had a higher body mass (p <0.02) compared to SED-S. The volume LV for SED-H group was higher compared to that of CT-H (p <0.001), but did not change when compared to SED-S. There was a lower activity of MMP-2 (p <0.05) in SED-S compared to CT-H. Lipid accumulation was observed (p <0.007) in the LV of SED-H group compared to CT-H. The longer life associated with high-fat diet promoted suppression in the enzymatic activity of SOD Total (p <0.01) and Mn-SOD (p <0.002) (SED-H), and increased activity of GSH (p <0.004). The RT was effective in attenuating the gain body mass in RT-H group compared to SED-H, even though higher compared to RT-S (p <0.005). In the group RT-H of MMP-2 activity was higher (p <0.03) compared to RT-S, but lower (p <0.04) compared to SED-H. The RT promoted greater citrate synthase activity (p <0.03), SOD Total (p <0.001) and Mn-SOD (p <0.03) and lower activity of GSH (p <0.01) in RT-H. There was no significant increase in TBARS level in the VE of the RT-H group. However, we observed increased lipid content (p <0.04). **Conclusion:** We conclude that high intensity RT, in obese rats, could be a pharmacological tool able to positively modulate the activity of MMP-2 and some antioxidant enzymes such as SOD Total, Mn-SOD and GSH. These effects are important for the maintenance of heart health, relieving the deleterious effects on obesity-related of the left ventricle remodeling, so experiment.

Key-words: Resistance training, left ventricular remodeling, high-fat diet, obesity, MMP-2, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Representação de análise de espessura relativa da parede do VE.....	27
FIGURA 2. Esquema de ação da MMP-2 no coração.....	34
FIGURA 3. Estrutura esquemática da MMP-2 nas suas isoformas de 72 kDa (Pró) e 64 kDa (Ativa).....	35
FIGURA 4. Esquema da ativação da MMP-2.....	36
FIGURA 5. Esquema de ativação extracelular e intracelular.....	37
FIGURA 6. Esquema do desenho experimental do estudo.....	41
FIGURA 7. Análise Bromatológica da dieta hiperlipídica ofertada ad libitum.....	42
FIGURA 8: Protocolo de Treinamento de Resistido em Escada.....	44
FIGURA 9. Estruturas e equipamentos utilizados durante o treinamento resistido.....	45
FIGURA 10. Figura ilustrativa da separação das cinco porções (A a E) do VE para armazenamento em freezer -80°C para evitar o descongelamento e recongelamento das amostras.....	47
FIGURA 11. Figura representativa de um gel de SDS-PAGE.....	49
FIGURA 12. Figura representativa de um gel de teste negativo em SDS-PAGE com EDTA a 450 mM adicionadas às amostras e ao tampão de incubação.....	50
FIGURA 13. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal no período de indução à obesidade.....	55
FIGURA 14. Atividade da citrato sintase no VE.....	57
FIGURA 15. Conteúdo lipídico totais no VE.....	58
FIGURA 16. Efeito da indução à obesidade pela dieta hiperlipídica na atividade da MMP-2.....	59
FIGURA 17. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal.....	61
FIGURA 18. Atividade da citrato sintase no VE.....	63
FIGURA 19. Conteúdo lipídico totais no VE.....	64

FIGURA 20. Efeito do Tempo de vida e da Dieta Hiperlipídica na atividade da MMP-2.....	66
FIGURA 21. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal.....	69
FIGURA 22. Volume de carga de carregamento.....	71
FIGURA 23. Efeito do TR e da dieta hiperlipídica sobre a atividade da citrato sintase no VE.....	73
FIGURA 24. Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica sobre o conteúdo lipídico totais no VE	74
FIGURA 25. Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica sobre a atividade da MMP-2.....	76

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Principais antioxidantes e algumas de suas funções.....	31
TABELA 2. Algumas metaloproteinases com seus nomes comuns e alguns substratos.....	32
TABELA 3. Organização dos dias de treinamento resistido.....	45
TABELA 4. Porções do VE e análises realizadas com cada porção.....	47
TABELA 5. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.....	56
TABELA 6. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).....	60
TABELA 7. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.....	62
TABELA 8. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).....	68
TABELA 9. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.....	70
TABELA 10. Número de sessões de exercício por semana.....	72
TABELA 11. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).....	78
TABELA 12. Correlação entre MMP-2 e enzima antioxidantes do VE.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍGLAS E SÍMBOLOS

- CAT** – Catalase
- ERNS** – Espécies reativas de nitrogênio
- EROS** – Espécies reativas de oxigênio
- GPx** – Glutathione peroxidase
- GSH** – Glutathione reduzida
- GSSG** – Glutathione oxidada
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IL-6** – Interleucina 6
- IMC** – Índice de massa corporal
- MDA** – Malondialdeído
- MEC** – Matriz extracelular
- MMP-2** – Metaloproteinase 2
- PCR** – Proteína C reativa
- SOD** – Superóxido dismutase
- TBARS** – Espécies reativas do ácido tiobarbitúrico
- TIMP** – Inibidor tecidual de metaloproteinase
- TNF- α** – Fator de necrose tumoral Alfa
- TR** – Treinamento resistido
- VE** – Ventrículo esquerdo
- CT-P** – Grupo Controle Dieta Padrão
- CT-H** – Grupo Controle Dieta Hiperlipídica
- SED-P** – Grupo Sedentário Dieta Padrão
- SED- H** – Grupo Sedentário Dieta Hiperlipídica
- TR-P** – Grupo Treinado Dieta Padrão
- TR-H** – Grupo Treinado Dieta Hiperlipídica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Justificativa	20
1.2 Objetivo	21
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 A Obesidade e Doenças Cardíacas	22
2.2 Treinamento Resistido, Obesidade e Remodelamento Ventricular	24
2.3 Estresse Oxidativo	29
2.4 Metaloproteinase de Matriz - 2 e Remodelamento Tecidual.....	32
3. HIPÓTESE.....	38
4. MATERIAIS MÉTODOS.....	39
4.1 Aprovação do Comitê de Ética	39
4.2 Animais e Condições Experimentais.....	39
4.3 Protocolo e Grupos Experimentais	39
4.6 Bromatologia.....	42
4.7 Ganho de Massa Corporal.....	43
4.8 Consumo Alimentar	43
4.09 Protocolo de treinamento resistido de alta intensidade em escada	43
4.10 Volume Total de Carga de Carregamento e Carga relativa total de Carregamento	46
4.11 Eutanásia e Coleta do Ventrículo Esquerdo	46
4.12 Quantificação de Proteína para Zimografia, Método BCA.....	47
4.13 Detecção da atividade enzimática da MMP-2 por Zimografia.....	48
4.14 Ensaio de atividade enzimática da SOD e CAT	50
4.15 Ensaio da atividade enzimática da Glutathiona Peroxidase (GPx).....	51
4.16 Quantificação da Glutathiona Reduzida (GSH)	52
4.17 Determinação da Peroxidação Lipídica (TBARS).....	52
4.18 Determinação de proteínas pelo método de Bradford	53
4.19 Determinação da concentração de lipídios totais.....	53
4.20 Ensaio da atividade enzimática da Citrato Sintase	53
5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	54
6. RESULTADOS	55

6.1 Resultados da primeira fase do estudo, três semanas de indução à obesidade.....	55
6.1.1 Massa Corporal.....	55
6.1.5 Atividade da MMP-2 por Zimografia.....	59
6.1.6 Atividade específica das enzimas antioxidantes, GSH e Peroxidação Lipídica	60
6.2 Resultados da segunda fase do estudo, efeitos da dieta hiperlipídica por mais oito semanas.....	61
6.2.1 Massa Corporal.....	61
6.2.2 Variação da relação massa do coração e VE/MC	62
6.2.3 Atividade da Citrato Sintase.....	63
6.2.4 Conteúdo Lipídico Totais.....	64
6.2.5 Atividade da MMP-2 por Zimografia.....	65
6.2.6 Atividade específica das enzimas antioxidantes, GSH e Peroxidação Lipídica	67
6.3 Resultados da terceira fase do estudo, protocolo de TR por oito semanas associado com dieta hiperlipídica	69
6.3.1 Massa Corporal.....	69
6.3.2 Variação da relação massa do coração e VE/MC	70
6.3.4 Volume de carga de carregamento, Volume relativo de carga de carregamento e número de sessões semanais.....	71
6.3.5 Atividade da enzima Citrato Sintase	73
6.3.6 Conteúdo Lipídico Totais.....	74
6.3.7 Atividade da MMP-2 por Zimografia.....	75
6.3.8 Atividade das enzimas antioxidantes e Peroxidação Lipídica	77
6.8 Correlações entre MMP-2 e enzimas antioxidantes	79
7 DISCUSSÃO	80
8 CONCLUSÃO.....	94
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

1 INTRODUÇÃO

O aumento do número de pessoas obesas em todo o mundo é motivo de preocupação global, sendo a obesidade qualificada como a epidemia do século (Organization, 2013). Essa doença de origem multifatorial é um dos grandes males da sociedade contemporânea onde 95% dos casos são de origem exógena, tais como alimentação inadequada e inatividade física. A obesidade de caráter exógeno indica que a ingestão de calorias em excesso e a diminuição da atividade física diária tem sido a causa de tantos casos de obesidade, crescente tanto em adultos quanto em crianças (Dâmaso, 2003; World Health Organization, 2013).

A obesidade está associada a inúmeros fatores de risco cardiovasculares, doenças isquêmicas do coração, insuficiência cardíaca, resistência à insulina, hipertensão e dislipidemia (AKKI & SEYMOUR, 2009; (De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012). A “cardiomiopatia da obesidade” tem sido caracterizada como uma disfunção miocárdica. Ela está associada à insuficiência cardíaca decorrente do desenvolvimento da obesidade.(AKKI & SEYMOUR, 2009). A obesidade também induz alterações importantes no sistema cardiovascular que podem levar à insuficiência cardíaca (Wang *et al.*, 2002), hipertrofia patológica, hipertensão e um remodelamento ventricular que pode levar a sérias complicações cardíacas (De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012).

O remodelamento do tecido cardíaco é um processo progressivo de indução a uma resposta adaptativa e/ou compensatória de função estrutural decorrente de vários estímulos, tais como obesidade, hipertensão, isquemia / reperfusão e infarto do miocárdio. A hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE) é considerada como uma das alterações cardíacas mais importantes induzidas pela obesidade e/ou hipertensão (Wang, Wisloff *et al.*, 2010). Evidências científicas têm mostrado que o remodelamento da matriz extracelular (MEC) como um componente importante do remodelamento tecidual cardíaco. O remodelamento cardíaco é o resultado do aumento da síntese e deposição componentes da MEC acompanhada por um aumento da atividade de proteases extra e intracelular, tais como as metaloproteinases de matriz (MMP) responsáveis pela quebra de componentes da MEC (Weber, 1989; Jensen e Host, 1997; Verzola, Mesquita *et al.*, 2006; Marqueti, Micocci *et al.*, 2012).

As MMPs são uma família de endopeptidases zinco-dependentes que contribuem para a regulação do remodelamento normal do tecido cardíaco (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011). Além disso, a MMP pode ser considerada como um mediador direto do remodelamento ventricular, especialmente a

MMP-2 (Verzola, Mesquita *et al.*, 2006; Marqueti, Micocci *et al.*, 2012). Vários fatores possíveis, tais como a obesidade, hipertensão, dislipidemia, estado inflamatório e o estresse oxidativo estão correlacionados com o remodelamento do VE. Esses fatores são considerados como estimuladores da atividade e síntese da MMP-2 (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011).

Segundo Shculz (2007), o estresse oxidativo é um grande fator responsável pela atividade proteolítica do zimogênio de 72kDa da MMP-2, sem contudo transformar essa isoforma em sua forma ativa de 64 kDa (MMP-2 Ativada).

Recentes evidências indicam que a obesidade está associada com aumento da peroxidação lipídica no miocárdio e com maior suscetibilidade ao dano oxidativo. Esse processo tem início por meio das espécies reativas do metabolismo do oxigênio (Derosa, Ferrari *et al.*) (Derosa, Ferrari *et al.*) e nitrogênio (ERNS), conhecido como radicais livres, ácidos graxos poli-insaturados, que se encontram nas membranas celulares e nas lipoproteínas. A peroxidação lipídica é utilizada como um indicador do estresse oxidativo celular tendo relação direta com doenças cardíacas (Higdon e Frei, 2003); CRUZAT *et al.*, 2007). Neste sentido, o exercício tornou-se um dos aspectos mais importantes como estratégia não farmacológica para o controle da obesidade e ganho de peso (Speretta *et al.*, 2012), devido ao seu efeito protetor contra comorbidades relacionadas à obesidade (Organization,

2013). A experiência clínica mostra que exercícios de intensidade moderada são capazes de reduzir a massa corporal e o tecido adiposo visceral, além de melhorar a sensibilidade à insulina e pressão arterial em pacientes com sobrepeso e síndrome metabólica (Pedersen, 2006; Duarte *et al.*, 2008).

A prática regular de exercício físico é considerada um fator de prevenção da obesidade e doenças relacionadas (Pedersen, 2006; Haskell, Lee *et al.*, 2007). Os treinamentos de endurance, concorrente e resistido (TR) são recomendados como modalidades de exercício que promovem o aumento no gasto de energia, redução no peso corporal, alterações na composição corporal, maior aptidão cardiorrespiratória, e redução dos riscos relacionados com a obesidade (Haskell, Lee *et al.*, 2007).

Há um crescente interesse no TR como modalidade de exercício capaz de regular a atividade de proteínas ligadas ao remodelamento cardíaco (MMPs) assim como evitar o efeito deletério da obesidade sobre o remodelamento ventricular (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011). Recentemente, Marqueti *et al.* (2012) demonstraram que exercício de alta intensidade (salto em água com carga) aumenta

significativamente a atividade da MMP-2 e o nível de proteínas no VE de ratos, o que pode contribuir para um remodelamento cardíaco saudável.

Alguns estudos mostram que o TR foi eficaz em diminuir o tecido adiposo em ratos (Speretta *et al.*, 2012) aumentar a massa magra (Hornberger e Farrar, 2004) e melhorar o quadro inflamatório [(diminuição dos níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proteína C-reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6)] (Strasser, Arvandi *et al.*, 2012).

Recentemente, (Speretta *et al.*, 2012) demonstraram que o TR foi eficaz em diminuir a área de tecido adiposo, adiposidade, melhorar o perfil lipídico e a inflamação associada à obesidade (diminuição da expressão de TNF- α no tecido adiposo visceral) em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

Trabalhos anteriores (Ahmadiasl, Najafipour *et al.*, 2012; Marqueti, Micocci *et al.*, 2012) mostram que o TR possui um efeito cardioprotetor. Esse efeito é devido à melhora do sistema antioxidante do organismo, com uma menor estresse oxidativo, regulando assim a atividade de enzimas relacionadas ao remodelamento tecidual, promovendo uma melhora na saúde cardíaca.

Ainda não há estudos científicos que mostram os efeitos do TR em ratos obesos exógenos sobre o remodelamento ventricular associado à atividade das MMPs e sistema antioxidante.

1.1 Justificativa

O crescente aumento da obesidade mundial e das comorbidades levam cada vez mais a comunidade científica, as indústrias farmacêuticas e os profissionais da área da saúde a buscarem conhecimentos e estratégias para prevenir e tratar a obesidade e suas comorbidades.

O exercício físico é uma importante ferramenta capaz de promover inúmeros benefícios na prevenção e no tratamento da obesidade, inclusive no remodelamento tecidual e sistema oxidativo dentro de um quadro de obesidade. Portanto, algumas modalidades de exercício são preconizadas para auxiliar no tratamento da obesidade, como por exemplo, treinamento de força (Ahmadiasl, Najafipour *et al.*, 2012; World Health Organization, 2013).

Inúmeros são os estudos que mostram os efeitos benéficos do exercício aeróbio moderado na obesidade. Já o TR vem ganhado espaço no mundo científico apenas há poucos anos. O aumento no número de evidências que apontam seus efeitos benéficos em indivíduos saudáveis, atletas ou portadores de doenças como a obesidade contribui para isso.

No entanto, os efeitos do TR sobre a obesidade e principalmente sobre o remodelamento ventricular precisam de mais estudos. Além disso, faltam investigações que mostrem os resultados de TR associado à obesidade neste contexto. Assim, o presente estudo foi elaborado para incidir uma pequena luz sobre o tema acima discutido, com o intuito de contribuir para o entendimento acerca do possível efeito do TR sobre o VE em ratos obesos exógenos.

1.2 Objetivo

Neste trabalho o objetivo foi analisar os efeitos do treinamento resistido de alta intensidade em escada associado à dieta hiperlipídica na atividade da MMP-2 e enzimas antioxidantes (SOD Total, Mn-SOD, CAT, GPx), GSH e peroxidação lipídica, relacionadas ao remodelamento do ventrículo esquerdo, em ratos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A Obesidade e Doenças Cardíacas

A obesidade é uma doença caracterizada pelo excesso de tecido adiposo. Ela é considerada o maior fator relacionado a doenças cardiovasculares, sendo o principal componente da síndrome metabólica (SM), a qual é definida pelo conjunto de anomalias cardiometabólicas que aumenta os riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e coronarianas. Os componentes chaves da SM são a intolerância à glicose ou diabetes, obesidade, hipertensão e dislipidemia, especificamente hipertrigliceridemia e baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) (Yan, Liu *et al.*, 2007; Ginsberg e Maccallum, 2009; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011).

No período de 1980 a 2008, a obesidade praticamente dobrou em todo o mundo. Hoje, afeta mais de meio bilhão de indivíduos acima dos 20 anos, das quais 297 milhões são mulheres (13,8%) e 205 milhões são homens (9,8%). Percentuais estes preocupantes uma vez que, em 1980, estavam em 7,9% de mulheres e 4,8% homens (Finucane, 2011).

Segundo dados divulgados pelo IBGE (2010), em nosso país houve um aumento contínuo na população de mais de 20 anos de idade no sobrepeso e obesidade nos últimos 35 anos. O sobrepeso praticamente triplicou entre os homens, de 18,5% em 1975 para 50,1% em 2009. Nas mulheres, o aumento foi menor: de 28,7% para 48%. Já a obesidade teve um crescimento de mais de quatro vezes entre os homens, passando de 2,8% para 12,4% e de mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9%. Porém, o déficit de peso segue em declínio, regredindo de 8% em 1974-75 para 1,8% entre os homens e de 11,8% para 3,6% entre as mulheres, em todos os níveis de renda.

As mudanças nos padrões alimentares, como alimentos ricos em calorias e de baixo valor nutricional e a inatividade física são dois fatores chaves para o aumento da prevalência da obesidade. As mudanças nos padrões nutricionais devem-se principalmente às transformações demográficas, socioeconômicas e epidemiológicas ao longo do tempo (World Health Organization, 2013).

A obesidade exógena é consequência de um balanço energético positivo, onde a energia ingerida excede a energia gasta. Esse balanço energético positivo é resultado tanto do aumento da ingestão calórica quanto da redução do gasto calórico total, ou na maioria dos

casos, a combinação destes fatores (Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Duarte *et al.* 2008; Speretta *et al.* 2012).

Estudos mostram que a dieta hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade, já que comprovadamente leva ao acúmulo de gordura corporal tanto em humanos (Ginsberg e Maccallum, 2009) quanto em animais (Estadella *et al.*, 2004; Duarte *et al.*, 2012). A obesidade induzida por esse tipo de dieta é classificada como hipertrófica e hiperplásica, que promove um aumento no tamanho e número de adipócitos. A hipertrofia do tecido adiposo, que ocorre particularmente no compartimento visceral, está associado à resistência à insulina, hiperglicemia, dislipidemias, hipertensão e estados pró-trombóticos e inflamatórios (Estadella *et al.*, 2004; Akki e Seymour, 2009).

A ingestão elevada de gordura leva a um balanço energético positivo e, conseqüentemente, ao acúmulo de massa gorda. A eficiência com que o lipídio da dieta é estocado como gordura corporal em cerca de 96%. Os lipídios apresentam a maior densidade energética e a maior capacidade de estoque no organismo, comparado aos outros macronutrientes (World Health Organization, 2013).

Uma pequena diferença entre a energia que é ingerida e a que é gasta, pode levar a grandes aumentos na gordura corporal. Um exemplo é a ingestão de apenas 5% a mais de calorias do que a energia gasta pode resultar no acúmulo de 5kg de tecido adiposo em apenas 12 meses. A ingestão a mais de apenas 8 kcal por dia além do que se gasta pode levar a um aumento de 10kg de peso corporal em 30 anos, que é a quantidade média de peso ganho pelos norte-americanos adultos durante o período dos 25 aos 55 anos de idade (Rosenbaum, 1997). Assim, para uma diminuição dos estoques de gorduras corporais é necessário que o balanço energético seja negativo, gastando mais energia do que se ingere.

Há vários tipos de tratamentos que visam promover um balanço energético negativo. Um desses tratamentos são as dietas restritivas. Entretanto, essas dietas levam não somente à diminuição da massa magra como a perda de minerais, além de não permitir que o indivíduo permaneça por um período maior em restrição, levando ao efeito conhecido como sanfona (alternância entre períodos de restrição alimentar e realimentação). Nosso grupo de estudo, utilizando ratos obesos submetidos à intervenção de restrição alimentar severa, quando realimentados, mostrou que há a reposição da massa gorda além do desenvolvimento de dislipidemias (Duarte *et al.*, 2008).

O ideal seria a união da reeducação alimentar e o exercício físico. O exercício físico é um ótimo tratamento não farmacológico e uma ferramenta eficaz para a prevenção e tratamento da obesidade e comorbidades. O exercício físico promove a diminuição da massa

gorda em adultos e adolescentes com sobrepeso por meio de um aumento da energia gasta, restaurando a capacidade do músculo esquelético em oxidar gorduras (Haskell, Lee *et al.*, 2007; Akki e Seymour, 2009).

A regulação do balanço energético modulada por uma complexa rede de sistemas de feedback, o que envolve o controle hormonal e neural da energia ingerida e da energia gasta. O desequilíbrio energético leva a mudanças bruscas no metabolismo dos adipócitos. Essas mudanças determinam se os triacilgliceróis serão mobilizados ou armazenados, ou ainda se a glicose será oxidada ou convertida em ácidos graxos ou em glicogênio (Silvestri, Ligresti *et al.*, 2011).

Dessa maneira, entendemos que muitos estudos, como os citados acima, são realizados para um melhor entendimento dos efeitos do exercício físico sobre as doenças associadas à obesidade, como a hipertensão, insuficiência cardíaca e o remodelamento patológico do ventrículo esquerdo em indivíduos obesos.

2.2 Treinamento Resistido, Obesidade e Remodelamento Ventricular

Várias alternativas vêm sendo estudadas como meio de combate à obesidade e suas comorbidades. Uma dessas alternativas utilizadas no combate à obesidade e as doenças cardiovasculares relacionadas é o exercício físico (Strasser, Arvandi *et al.*, 2012; World Health Organization, 2013).

O movimento corporal é inerente ao ser humano. Quando esse movimento se apresenta de modo voluntário ele é considerado como atividade física. Exemplo disso são as atividades de vida diária como caminhar de casa para o trabalho, varrer o quintal, lavar o carro entre outras. Quando a atividade física é realizada de forma sistemática e planejada com objetivos determinados como a melhoria do condicionamento físico ou desenvolvimento de habilidades motoras ela passa a ser denominada de exercício físico (Brandl, 2002).

Sobrecargas hemodinâmicas podem levar à hipertrofia adaptada, ou fisiológica, ou a mal-adaptada, ou patológica. A hipertrofia desenvolvida em decorrência da sobrecarga hemodinâmica transitória é denominada como sendo hipertrofia fisiológica. Um exemplo são as observadas no crescimento cardíaco durante a adolescência e gestação e a causada em resposta a exercícios regulares. A hipertrofia causada em decorrência a sobrecarga hemodinâmica persistente é denominada de hipertrofia patológica (Garcia e Incerpi, 2008).

O exercício físico é capaz de modificar significativamente o tamanho, aspecto e função do coração. A hipertrofia miocárdica é um mecanismo adaptativo em resposta ao excesso de pós-carga imposto ao coração que pode ser fisiológico ou patológico. Um fator que pode agir negativamente sobre as características do miocárdio é o sedentarismo, que resulta em uma hipertrofia cardíaca diferente da adquirida por meio do exercício físico. Apesar de comprovados os benefícios do exercício físico, o sedentarismo continua presente em 60% da população. Desse modo, o exercício físico pode influenciar de forma positiva na diminuição dos fatores de riscos cardíacos (Haskell, Lee *et al.*, 2007; World Health Organization, 2013).

Na condição de hipertensão, a hipertrofia VE é desencadeada devido a uma sobrecarga de pressão contínua. Por outro lado, a hipertrofia VE decorrente do exercício físico é devido pelo aumento intermitente da pressão sanguínea durante a realização do mesmo. Praticantes de levantamento de peso podem desenvolver uma hipertrofia cardíaca devido ao aumento da sobrecarga de pressão. Essa hipertrofia é notadamente diferente da hipertrofia observada em praticantes de outros esportes com um alto componente dinâmico, como corrida. Essa hipertrofia é caracterizada por aumento da parede ventricular sem que ocorra mudanças no diâmetro da cavidade ventricular (Barauna, Rosa *et al.*, 2007).

Há uma forte relação entre inatividade física e presença de fatores de risco cardiovascular como hipertensão arterial, resistência à insulina, diabetes, dislipidemia e obesidade. Por outro lado, recomenda-se a prática regular de atividade física como prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares e outras doenças associadas à obesidade (Pedersen, 2006; World Health Organization, 2013)

A hipertrofia do VE acontece por um conjunto de alterações da estrutura dos cardiomiócitos que podem ser decorrentes do aumento das dimensões dessas células, da proliferação do tecido conjuntivo intersticial e da rarefação da microcirculação coronariana. As células cardíacas quando sofrem um estímulo hipertrófico, ele é traduzido no interior da célula, por alterações bioquímicas que levam à ativação de segundos mensageiros, no citosol, e terceiros mensageiros, no núcleo da célula. Esses estímulos regulam a transcrição, e finalmente determinarão a expressão gênica que induz a hipertrofia ventricular. Essa hipertrofia ventricular pode ocorrer tanto pela adição de sarcômeros em série (sobrecarga de volume) como pela adição de sarcômeros em paralelo (sobrecarga de pressão), o que permite que a célula aumente em comprimento (hipertrofia excêntrica) ou em diâmetro (hipertrofia excêntrica) (Garcia e Incerpi, 2008).

O exercício físico regular traz muitos benefícios a saúde, incluindo redução do risco de doenças cardiovasculares. A inclusão de treinamento resistido (TR) como parte integrante de um programa de tratamento não farmacológico é recomendado pela Associação Americana do Coração e pelo Colégio Americano de Medicina Esportiva. Recentes evidências científicas mostram que o TR possui um efeito cardioprotetor melhorando o sistema antioxidante do organismo, regulando assim a atividade de enzimas relacionadas ao remodelamento tecidual, melhorando com isso a saúde cardíaca (Haskell, Lee *et al.*, 2007; Williams, Haskell *et al.*, 2007). Indivíduos que possuem uma prática regular de exercícios físicos apresentam uma variedade de alterações morfológicas e funcionais, decorrentes de sua prática, como melhora da função cardíaca como bomba e melhora da capacidade do sistema cardiovascular de fornecer oxigênio aos músculos que se exercitam. Dentre essas adaptações estão o aumento da dimensão diastólica final da cavidade ventricular esquerda, da espessura parietal e da massa ventricular esquerda, melhora do enchimento diastólico e redução da frequência cardíaca (Haskell, Lee *et al.*, 2007; Williams, Haskell *et al.*, 2007)

Na obesidade grave o aumento da massa corpórea origina um incremento nas necessidades metabólicas por parte do tecido adiposo, ocasionando elevação do débito cardíaco que, associado à sobrecarga de volume, promove o aumento da massa cardíaca, levando assim a uma hipertrofia cardíaca patológica. Já o exercício físico induz a uma hipertrofia cardíaca considerada fisiológica. Essa hipertrofia é desenvolvida de forma simétrica no coração. Essas alterações estruturais resultantes do treinamento físico dependem do tipo, duração e intensidade do exercício (Haskell, Lee *et al.*, 2007; Williams, Haskell *et al.*, 2007).

Por muitos anos o TR foi considerado de pouca importância para o tratamento de doenças cardíacas, pois era considerado pouco eficiente em diminuir os riscos de doenças cardiovasculares e também era considerado perigoso, pois se imaginava que poderiam elevar a pressão arterial e também promover hipertrofia patológica do miocárdio. Acreditava-se também que eram pouco eficientes para aprimorar a função de bomba do coração e para aumentar a oxigenação dos tecidos. Contudo, foram esclarecidos muitos aspectos relevantes sobre o TR. Hoje já se sabe que hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício resistido é considerada fisiológica um fator importante para as capacidades funcionais (Fleck, 1998).

O aumento da força do músculo esquelético e cardíaco permite realizar as atividades do trabalho e da vida diária com menor esforço, diminuindo assim as alterações de frequência cardíaca e de pressão arterial durante as atividades. Todos esses efeitos observados

chamaram a atenção para sua aplicação em reabilitação cardíaca (Haskell, Lee *et al.*, 2007; Williams, Haskell *et al.*, 2007).

A hipertrofia cardíaca observada na obesidade ocorre devido ao aumento do débito cardíaco que se eleva a custa do aumento no volume circulante, ocasionando um estado de pré-carga cronicamente elevada. Isso pode favorecer ao aumento das dimensões ventriculares, no estresse parietal e na massa ventricular esquerda (figura 1), o que leva ao desenvolvimento de hipertrofia ventricular excêntrica (Filho, 2012).

A hipertrofia ventricular esquerda observada na obesidade apresenta correlação positiva com o aumento do índice de massa corporal (IMC) e com o tempo de obesidade, confirmando a hipótese de que a obesidade é um fator que causa hipertrofia cardíaca. As alterações estruturais cardíacas podem estar presentes mesmo sem nenhum sinal clínico de cardiopatia, representando uma manifestação subclínica da miocardiopatia da obesidade (De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012).

Por outro lado, o treinamento de força induz a uma hipertrofia concêntrica (figura 1) (Fleck, 1998). Essa hipertrofia é decorrente da sobrecarga de pressão que ocorre no ventrículo esquerdo, que é caracterizada pelo elevado pico de tensão sistólica. Como resposta frente a essa sobrecarga hemodinâmica ocorre aumento no diâmetro dos miócitos pela adição de novos sarcômeros em paralelo. Isso leva a um aumento na espessura da parede do ventrículo esquerdo (Filho, 2012; De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012).

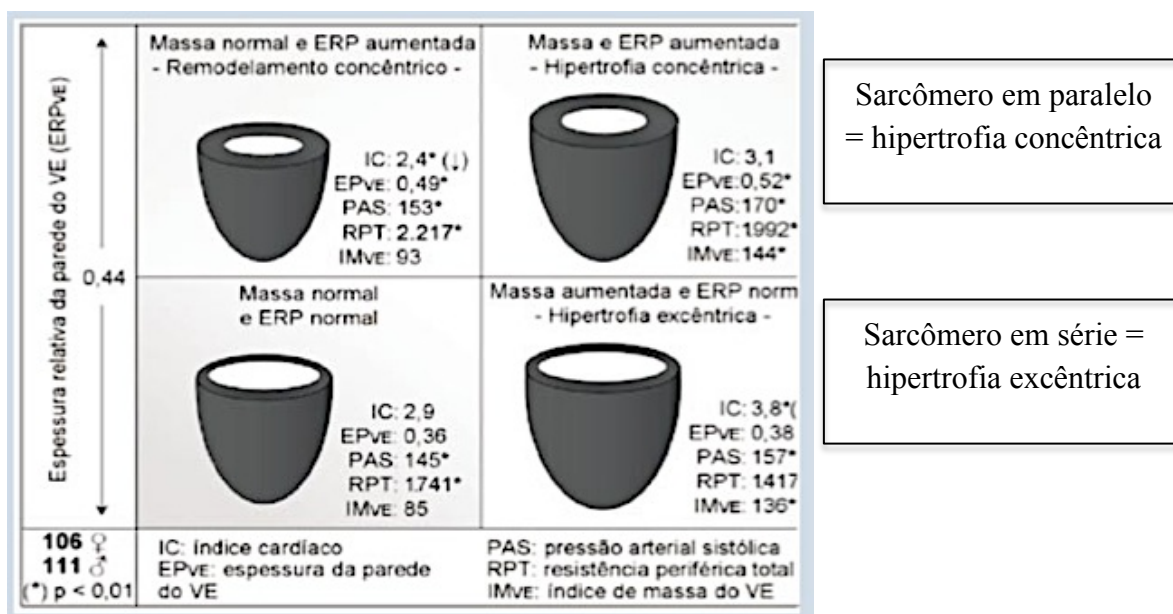


Figura 1. Representação de análise de espessura relativa da parede do VE. Indivíduos com massa ventricular normal podem apresentar remodelamento concêntrico ou geometria normal, enquanto indivíduos com aumento da massa apresentam hipertrofia concêntrica ou excêntrica. Adaptado de (Filho, 2012).

A hipertrofia dos miócitos cardíacos contribui para o aumento da massa cardíaca, além do enrijecimento de suas paredes, podendo dobrar a área transversal média de suas células, gerando mudança na forma celular. Porém, a hipertrofia cardíaca não depende apenas do aumento de massa do cardiomiócitos. Está associada a alterações na estrutura e composição bioquímica da matriz extracelular, cujo principal componente é o colágeno (Filho, 2012).

Para que haja hipertrofia cardíaca é necessário que ocorra a síntese de novos componentes com aumento da espessura, do número e comprimento das miofibrilas. Também ocorrem modificações nas proporções dos diferentes tipos de actina e miosina produzidas. Isso se dá para adequar a velocidade e a força de contração necessárias ao processo de adaptação em face do estímulo que gerou a hipertrofia (Barauna, Rosa *et al.*, 2007). Na hipertrofia não há multiplicação de miócitos e sim a adição de sarcômeros em série. Essa adição em série permite que a célula aumente de comprimento, ocorrência principal nas hipertrofias excêntricas. Já a adição em paralelo aumenta a secção transversa das células, o que ocorre principalmente nas hipertrofias concêntricas (Jarmila Machackova, 2006).

O remodelamento, a hipertrofia cardíaca e a deposição de tecido conjuntivo são respostas compensatórias do miocárdio ao trabalho aumentado. Isso é observado na hiperfunção miocárdica que induz à injúria miocárdica e ao aumento de tamanho do miócito, provocando assim um aumento de massa e tamanho do coração (Jarmila Machackova, 2006).

O exercício físico atua no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca por meio de alterações estruturais nos cardiomiócitos. Essas alterações são dependentes do tipo, da duração e intensidade do exercício (Wang, Wisloff *et al.*, 2010).

O tecido cardíaco do homem adulto normal é formado por 80% de miócitos e 20% de matriz extracelular, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos. Esta proporção pode variar em diferentes fases do desenvolvimento do indivíduo. Durante a hipertrofia patológica, a proporção de colágeno e células que não são miócitos também aumenta no interstício cardíaco. Quando há perda crônica de células cardíacas há uma redução da capacidade do coração em suportar variações de pressão arterial e a sobrecarga de volume ventricular.

A razão da perda dessas células ainda não está muito clara, mas alguns estudos apontam que, no miocárdio, a morte celular pode ocorrer por dois mecanismos: tanto por necrose quanto por apoptose.

2.3 Estresse Oxidativo

A obesidade é um estado de estresse oxidativo e inflamação crônica que mesmo que não haja outros fatores de risco cardiovasculares, aumenta a importância de desenvolver estratégias eficazes de prevenção e tratamento para a obesidade, mesmo na ausência de fatores de riscos cardiovasculares (Higdon e Frei, 2003).

O exercício físico regular é, potencialmente, o principal meio de modificar o sobrepeso e a obesidade. O exercício físico é recomendado como uma forma não farmacológica de tratamento da hipertensão além de reduzir os riscos de morte prematura e doenças cardiovasculares (Haskell, Lee *et al.*, 2007). A produção de radicais livres durante o exercício depende de alguns fatores, tais como frequência, intensidade, duração e do tipo de exercício executado (aeróbico ou anaeróbico) (Vancini, Silva *et al.*, 2004).

O exercício físico pode influenciar positivamente as defesas antioxidantes cardíacas e promover a melhora da função cardíaca. No entanto, o exercício crônico apresenta duplo efeito: por um lado, resulta na formação de oxidantes e estresse oxidativo, por outro lado, talvez como consequência, também pode induzir enzimas antioxidantes a minimizar os efeitos do estresse oxidativo devido ao exercício (Vancini, Silva *et al.*, 2004).

Em exercícios resistidos, o aumento das espécies reativas do metabolismo do oxigênio (Derosa, Ferrari *et al.*) ocorre devido a ativação da cadeia de transporte de elétrons, da síntese aumentada das enzimas xantina-oxidase e NADPH-oxidase, o prolongado processo de isquemia e reperfusão tecidual e a atividade fagocítica. Além disso, o aumento da síntese de ácido lático, catecolaminas e o elevado processo inflamatório após exercícios anaeróbios com intensidades supra-máximas também contribui significativamente para a produção de EROs (Cruzat *et al.*, 2007). Sessões de exercício resistido podem aumentar agudamente a síntese de EROs promovendo o aparecimento de lesões. Já como treinamento crônico pode ocorrer adaptações favoráveis aos sistema antioxidante. Cruzat *et al.* (2007) demonstram que, durante um treinamento resistido de seis semanas com sobrecarga na última semana (duas sessões no mesmo dia), houve aumento na atividade das enzimas glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) somente ao final da semana de sobrecarga, indicando que tanto o volume quanto a intensidade dos exercícios anaeróbios podem influenciar na adaptação do sistema antioxidante.

Um exemplo de efeito indesejável que o exercício pode causar é a produção de radicais livres em excesso o que pode levar a danos celulares. O radical livre é qualquer átomo, grupo de átomos ou molécula que apresenta um elétron não-pareado na órbita externa.

Como exemplo de radicais livres podemos citar o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o radical hidroxila ($\bullet OH$) e o óxido nítrico (NO^{\bullet}) (Droge, 2002). Porém, nem todos os compostos reativos podem possuir elétron não pareado na última camada. Não podem ser classificados como radicais livres, mas que indiretamente os geram. Estas substâncias são classificadas de maneira mais ampla como espécies reativas de oxigênio (Derosa, Ferrari *et al.*) ou espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e incluem o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o cátion nitrosonium (NO^+), o ânion nitroxila (Stehno-Bittel) e o peróxido nítrico ($ONOO^-$) (Droge, 2002).

Para se proteger dos efeitos deletérios da utilização do O_2 no processo de respiração celular, o organismo possui um complexo sistema de defesa antioxidante. Esse sistema é composto por diversas substâncias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. As principais enzimas desse sistema antioxidante são: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx). Essas enzimas porém, não atuam sozinhas. Elas agem associadas a substâncias antioxidantes extraídas da dieta, como as vitaminas A, C e E, assim como a glutatona, convertendo os agentes oxidantes em moléculas não tóxicas (David, 2006).

A SOD, uma enzima metal dependente, é a primeira linha de defesa contra os agentes oxidantes. No organismo eucariótico, o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) pode ser metabolizado, sendo transformado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por meio de duas isoenzimas da SOD contendo metais. A primeira é a SOD dependente de manganês (Mn-SOD) presente na mitocôndria, e a SOD dependente dos íons zinco e cobre (SOD Total) encontrada no citosol. Ambas as SODs atuam na formação do H_2O_2 e oxigênio molecular a partir de duas moléculas de $O_2^{\bullet-}$. Essa ação da SOD é uma fonte celular de H_2O_2 . Uma das funções mais importantes da enzima SOD é consumir a formação do $O_2^{\bullet-}$, já que este último pode reagir com o óxido nítrico (NO^{\bullet}), resultando na formação do peroxinitrito ($ONOO^-$) (David, 2006).

A segunda enzima que atua na desintoxicação do organismo é a CAT. (Droge, 2002). Ela reduz o H_2O_2 em H_2O e O_2 e trabalha junto com a GPx, dividindo a mesma função. Contudo, a especificidade e a afinidade com o substrato é diferente entre elas (David, 2006).

A GPx possui ação enzimática que catalisa a redução de H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos (ROOH) em H_2O e álcool, respectivamente. Isso ocorre por meio do uso da glutatona reduzida (GSH) como doadora de elétrons que é transformada em glutatona oxidada (GSSG). A GPx é encontrada no citoplasma celular e na matriz mitocondrial das células (Droge, 2002). Também há uma forma insolúvel associada com a membrana, que atua sobre os hidroperóxidos lipídicos. A glutatona redutase é outra enzima associada à membrana celular. Ela está envolvida no metabolismo da glutatona, pois permite a conversão de GSSG para GSH via oxidação de NADPH a $NADP^+$ (carreadores de elétrons). Reação esta essencial

para a disponibilidade de GSH *in vivo* (Vancini, Silva *et al.*, 2004; David, 2006). A tabela 1 mostra os principais antioxidantes e algumas de suas funções.

Tabela 1. Principais antioxidantes e algumas de suas funções

PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES		
Localização		Função
Enzimáticos		
Cu,Zn SOD	Citosol	Dismutação dos radicais superóxidos.
Mn-SOD	Mitocrôndria	Dismutação dos radicais superóxidos.
CAT	Citosol e Mitocrôndria	Remoção do H ₂ O ₂
GPx	Citosol e Mitocrôndria	Remoção do H ₂ O ₂ e hidroperóxidos orgânicos
Não Enzimáticos		
GSH	Citosol e Mitocrôndria	Remoção do H ₂ O ₂ .
Vitamina E	Membranas celulares	Antioxidante mais atuante contra a peroxidação lipídica.
Vitamina C	Citosol	Elimina uma longa variedade de EROs de fase aquosa.

Fonte: Adaptado de Vancini, Silva *et al.*, (2004). SOD Total: enzima superóxido dismutase dependente de cobre e zinco; Mn-SOD: enzima superóxido dismutase dependente de manganês; GSH peroxidase: enzima glutatona peroxidase; H₂O₂: peróxido de hidrogênio; GSH: glutatona; EROs: espécies reativas de oxigênio.

Uma forma de se avaliar o efeito do exercício físico sobre a produção de radicais livres é por meio da peroxidação lipídica (Droge, 2002). Esse é um processo que ocorre nos ácidos graxos poli-insaturados da membrana plasmática. A peroxidação lipídica se inicia por meio de um radical OH[•] que captura um átomo de hidrogênio de um carbono metileno da cadeia polialquil do ácido graxo. Esse ácido graxo com um elétron desemparelhado reage com o O₂ gerando um radical peroxil. O radical peroxil é um produto altamente reativo e pode se combinar com outros radicais semelhantes, propagando os danos às estruturas biológicas. O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da peroxidação lipídica da membrana. É um dialdeído altamente reativo que eventualmente reage com o grupo amino de proteínas, fosfolipídios ou ácido nucleicos, o que induz a modificações estruturais das moléculas biológicas (Droge, 2002). A formação de MDA é um produto final da peroxidação lipídica, que reage com o ácido tiobarbitúrico produzindo substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Noeman, Hamooda *et al.*, 2011)

Para que ocorra a peroxidação lipídica nas células do organismo são necessários vários fatores como o tipo, a intensidade, o nível de aptidão física e o *status* antioxidante dos indivíduos (Vancini, Silva *et al.*, 2004).

Estudo prévio mostrou que a obesidade induzida por dieta rica em gordura gera estresse oxidativo no coração, além de outros tecidos. Esse estresse oxidativo ocorre devido a diminuição na atividade das enzimas antioxidantes, mostrado nesse estudo. Também foi observado que os níveis de glutatona se relacionam com o aumento do MDA. Esses resultados podem contribuir para a progressão suplementar de problemas relacionados com a obesidade (Noeman, Hamooda *et al.*, 2011).

2.4 Metaloproteinase de Matriz - 2 e Remodelamento Tecidual

Várias evidências científicas mostram que o remodelamento tecidual cardíaco está relacionado com a MEC. O remodelamento cardíaco é o resultado do aumento da síntese e deposição de componentes da MEC, acompanhado por um aumento na atividade de proteases extracelular e intracelular, tais como as MMPs responsáveis pela degradação de componentes da MEC e de componentes dos sarcômeros dos cardiomiócitos (Chow, Cena *et al.*, 2007).

As MMPs pertencem à família de endopeptidases zinco-dependentes. Contribuem para a regulação do remodelamento normal do tecido. Atualmente se conhece 28 MMPs que foram classificadas de acordo com a sua ordem de descoberta (tabela 2). Dentre as MMPs, a MMP-2 pode ser considerada como um mediador direto do remodelamento ventricular, entre outros tecidos (Bergman et al 2007, Marqueti, 2012). Vários fatores como a obesidade, (Wilson, Tran *et al.*, 2007), hipertensão, dislipidemia, estado inflamatório e o estresse oxidativo estão correlacionados com o remodelamento cardíaco adverso considerado como estimulador da atividade e síntese de MMPs (Schulz, 2007; Wang, Wisloff *et al.*, 2010).

Tabela 2. Algumas metaloproteinases com seus nomes comuns e alguns substratos

Designação	Nome comum	Alguns substratos
MMP-1	Colagenase-1	Colágeno fibrilar
MMP-2	Gelatinase A	Fibronectina, vitronectina colágeno tipo I e IV
MMP-3	Estromelisina-1	
MMP-7	Matrilisina	Elastina
MMP-8	Colagenase-2	

MMP-9	Gelatinase B	Fibrina, Elastina
MMP-10	Estromelisina-2	
MMP-11	Estromelisina-3	
MMP-12	Metaloelastase	Elastina
MMP-13	Colagenase-3	Colágeno tipo II
MMP-14	MT1-MMP	Colágenos fibrilares
MMP-15	MT2-MMP	Fibrina
MMP-16	MT3-MMP	Colágenos fibrilares
MMP-17	MT4-MMP	
MMP-19	RASI-1	
MMP-20	Enamelisina	Amelogenina
MMP-23	CA-MMP	
MMP-24	MT5-MMP	
MMP-25	Leocolisina	
MMP-26	Endometase, Matrilisina-2	
MMP-28	Epilisina	

Adaptado de Parks & Mecham, (2011).

O estresse cardiovascular promove mudanças estruturais contribuindo para uma eventual disfunção do VE e para a manifestação da síndrome de insuficiência cardíaca. Essas mudanças estruturais ocorrem dentro da parede do miocárdio resultando em mudanças na geometria do ventrículo esquerdo, processo este denominado de “remodelamento cardíaco” que é mediado pelas MMPs (Higdon e Frei, 2003; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011).

A MEC do miocárdio é um microambiente complexo. Nela existe uma grande quantidade de proteínas, moléculas de sinalização, proteases e tipos de células que desempenham importante papel no processo de remodelamento cardíaco. Sua atividade proteolítica é determinada pelo equilíbrio entre concentrações relativas das MMPs ativas e seus inibidores tecidual de metaloproteinasas (TIMPs) identificadas em vários tecidos e células um grande número de MMPs. Existem categorias específicas de MMPs, que são de particular relevância para o remodelamento do miocárdio (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

A MMP-2 é expressa em quase todas as células que compõem o coração e pode ser ativada pelo estresse oxidativo, o que resulta na proteólise específica incluindo troponina I, miosina de cadeia leve 1 e α -actina além de vários substratos intracelulares (figura 2), umas

das responsáveis por doenças cardíacas (KANDASAMY *et al.*, 2010, VIAPPIANI *et al.*, 2009).

As MMPs são estritamente reguladas em diferentes níveis celulares, transcricional, pós-transcricional e pós-traducionais. Além disso, as MMPs são controladas por seus inibidores endógenos, TIMPs, que estão em equilíbrio com as MMPs em uma razão de 1:1, e por sua localização intra e extracelulares (KANDASAMY *et al.*, 2010). A diminuição dos níveis do Inibidor de Metaloproteinase Tecidual 1 (TIMP-1) concorre para aumentar a atividade dessas MMPs (Schulz, 2007). A atividade desregulada das MMPs pode favorecer o desenvolvimento de doenças cardíacas, incluindo aterosclerose, reestenose, cardiomiopatia dilatada e infarto agudo do miocárdio (CREEMERS *et al.*, 2001).

Cardiac myocyte

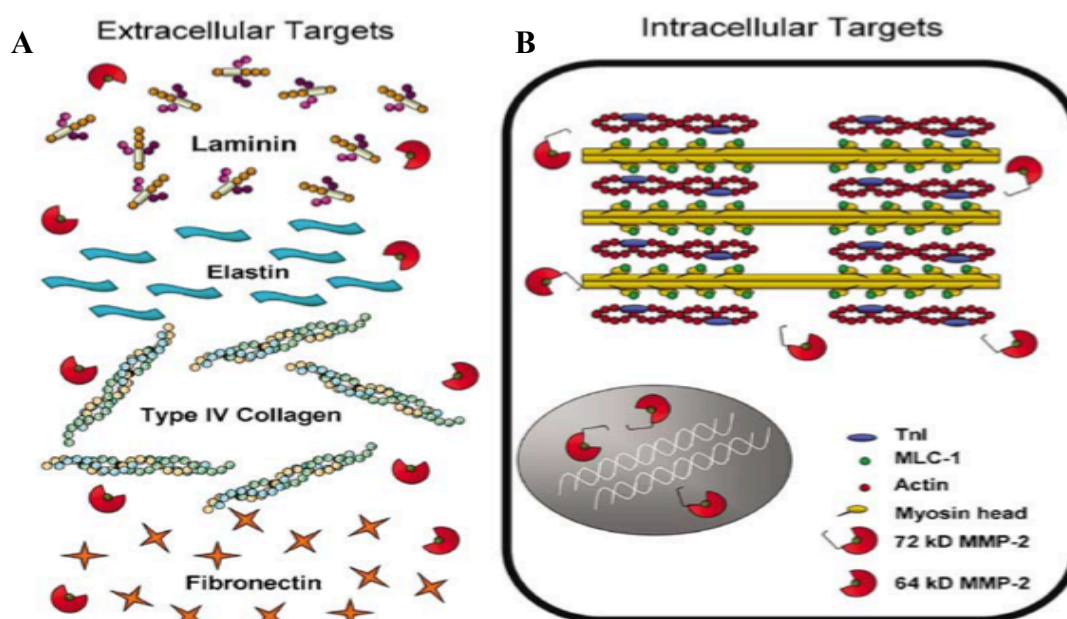


Figura 2. Esquema de ação da MMP-2 no coração. Alvos extracelulares de MMP-2 podem incluir proteínas de matriz como laminina, elastina, colágeno tipo IV e fibronectina. Isto pode levar a uma ruptura na adesão e na comunicação entre as células. Isso provavelmente ocorre somente após isquemia grave, resultando em infarto e processos de remodelamento do tecido. Figura A representa a atividade da MMP-2 Ativa (64 kDa) extracelular. B representa a MMP-2 Pró Ativada (72 kDa) como resultado do estresse oxidativo, pode rapidamente decompor as proteínas do sarcômero como TnI e MLC-1 causando disfunção contrátil aguda. TnI, Troponina I; MLC-1, miosina de cadeia leve 1; MMP, metaloproteinase de matriz. Adaptado de (Chow, Cena *et al.*, 2007).

Um estudo de Derosa *et al.* (2008) apontou para um potencial papel das MMPs atuando no remodelamento cardíaco no sobrepeso e na obesidade, como evidenciado por um aumento nos níveis plasmáticos de MMP-2 e MMP-9 em pacientes obesos comparados a indivíduos eutróficos. Além disso, foram encontrados níveis de TIMP-1 significativamente maior em indivíduos obesos (Kralisch, Bluher *et al.*, 2007). Assim, o exercício físico pode

favorecer no equilíbrio das MMPs e TIMPs, o que diminui os riscos à doenças cardiovasculares (Kwak, Kim *et al.*, 2011).

As MMPs são classificadas por números. Historicamente, elas foram organizadas de acordo com os substratos de matriz extracelular que elas degradavam primeiramente quando foram descobertas. A MMP-2, também conhecida como gelatinase A, encontrada em quase todos os tipos de células e degrada o colágeno desnaturado (gelatina) e intacto do tipo IV, um dos principais componentes da membrana basal, assim como outras proteínas de matriz extracelular (Chow, Cena *et al.*, 2007).

Existe uma sequência sinal N-terminal, na constituição das MMPs que são comuns a elas. Essa sequência permite a segmentação sub-celular e exportação da enzima extracelular. As MMPs são sintetizadas na forma de zimogênio inativo com um domínio pró-peptídeo auto-inibitório (figura 3). Esse domínio pró-peptídeo é como se fosse um escudo próximo ao sítio catalítico contendo Zn^{2+} . O domínio pró-peptídeo também possui uma sequência altamente conservada PRCGVPD, a qual contribui para a ligação do tiol da cisteína com o Zn^{2+} no domínio catalítico, o que impede o acesso do substrato ao sítio catalítico da MMP. A sequência PRCGVPD desempenha um papel importante na regulação da atividade de MMP. A MMP-2, assim como a 9, possui um domínio catalítico único dentre as MMPs. A fibronectina do tipo II no domínio catalítico da MMP-2 forma uma ligação com o domínio do colágeno. Essa ligação permite a degradação de colágeno tipo IV (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

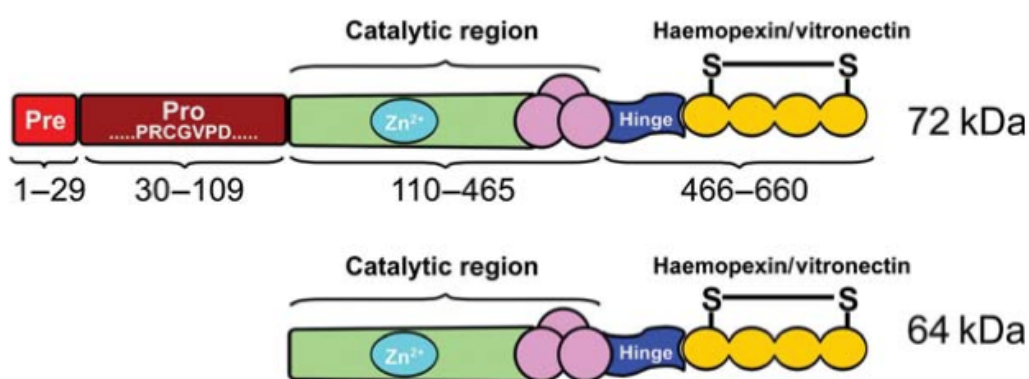


Figura 3. Estrutura esquemática da MMP-2 nas suas isoformas de 72 kDa (Pró) e 64 kDa (Ativa). A sequência de sinal N-terminal (indicada como "pré") é seguida pelo domínio pró-peptídeo. O sítio catalítico contém o local de ligação do Zn^{2+} . Um resíduo de cisteína no domínio pró-peptídeo auto-inibitório interage com o Zn^{2+} para evitar a ligação do substrato. MMP-2 (e MMP-9) é única a partir de outras MMPs em que o domínio catalítico contém três repetições de fibronectina (círculos rosa). As repetições de fibronectina pode se ligar ao colágeno desnaturado, melhorando sua interação com seus substratos. um domínio carboxi-terminal com repetições de hemopexina conectado ao domínio catalítico por uma região do tipo dobradiça media a interação com os substratos enzimáticos. Adaptado de (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

A MMP-2 é expressa como zimogênio chamado de Pró MMP-2 com massa molecular de 72kDa. Essa forma latente pode ser ativada posteriormente por clivagem proteolítica no compartimento pericelular e extracelular. Em humanos, a Pró MMP-2 (72 kDa) é ativada pela ação combinada da MMP-14 e TIMP-2. Assim, se transforma em uma forma enzimaticamente ativa, com massa molecular de 64 kDa. Porém, a Pró MMP-2 de 72 kDa também pode ser ativada por outra via, por meio do estresse oxidativo, sem a remoção proteolítica do domínio de pró-peptídeo (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

As MMPs são estreitamente reguladas em vários níveis, incluindo regulação transcricional, pós-transcricional e pós-traducional. Além disso, as MMPs são controladas por meio dos seus inibidores endógenos, as TIMPs, e pela sua localização intra e extracelular. A ativação da MMP-2 é regulada pelo seu status de fosforilação (figura 5 A). O estado de fosforilação de proteínas pode ser modulado pelo equilíbrio entre a ação de várias proteínas quinases e fosfatases (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

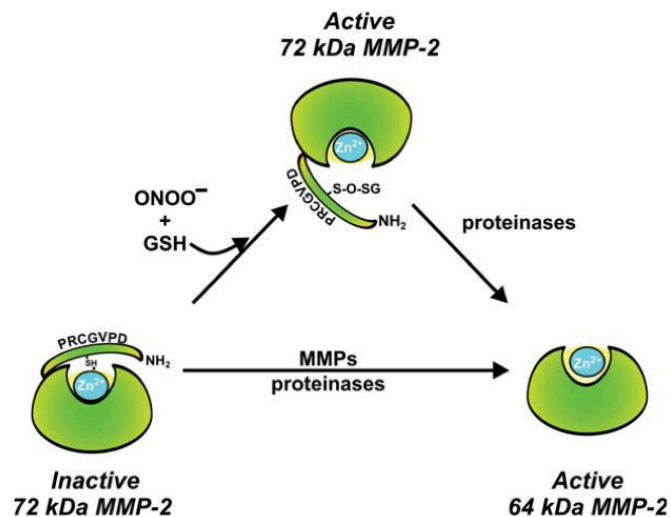


Figura 4. Esquema da ativação da MMP-2. Adaptado de (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

Outra forma de ativação da MMP-2 é a regulação não proteolítica pelo estresse oxidativo (figura 5). Essa regulação se dá por modificações pós-traducionais do zimogênio de 72 kDa, a Pró-MMP-2. Isso acontece por S-glutatioilação, S-nitrosilação. O ONOO^- (peróxido nítrico) ativa diretamente a MMP-2, assim como as MMP-1, 8 e 9. A ativação se dá por meio

de um mecanismo não proteolítico envolvendo a S-glutatiolização do grupo cisteína pró-peptídeo sulfidríla em uma reação que requer pequenas concentrações de ONOO^- em conjunto com níveis equimolares intracelulares de glutathiona reduzida (GSH) (VIAPPIANI *et al.*, 2009).

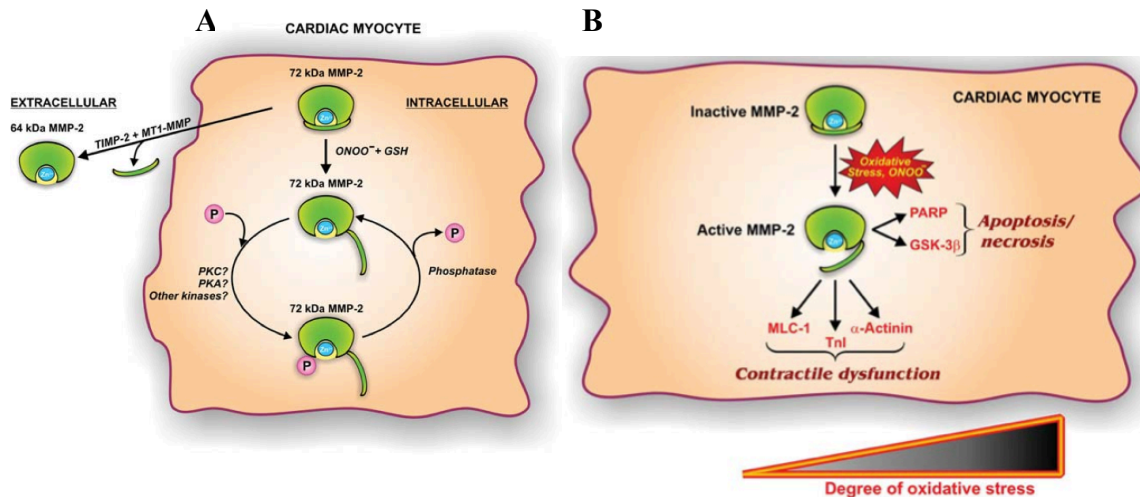


Figura 5. Esquema de ativação extracelular e intracelular por fosforilação (A) e lesões em proteínas contráteis no miócito cardíaco (B). A MMP-2 é uma fosfoproteína. Sua atividade é diminuída por fosforilação e aumentada por desfosforilação. As quinases e fosfatases envolvidas nestes eventos ainda não foram totalmente descobertas, embora se saiba que a PKC é capaz de fosforilar essa proteína. (B) A MMP-2 Pró Ativada degrada as proteínas sarcoméricas e proteínas do citoesqueleto, tais como Tropomiosina I, Miosina de cadeia leve e Alfa-Actina. A MMP-2 pode atua na poli (ADP-ribose) polimerase (PARP) ou GSK-3- β , que podem então ter um papel na morte celular por apoptose e / ou necrose. O grau de estresse oxidativo pode atuar na ditar o equilíbrio entre o envolvimento de MMP-2 em lesão celular reversível vs irreversível. Adaptado de (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

3. HIPÓTESE

O presente trabalho embasou-se em cinco hipóteses:

- 1) Três semanas de indução à obesidade, pela dieta hiperlipídica, pode promover o estresse oxidativo e aumento da atividade da MMP-2 Ativa no ventrículo esquerdo (VE);
- 2) O tempo prolongado e consumo de dieta hiperlipídica pode induzir a aumento do estresse oxidativo, assim como uma maior atividade da MMP-2 Ativa;
- 3) O TR modula de forma positiva, diminuindo a atividade da MMP-2;
- 4) O TR pode aumenta a atividade das enzimas antioxidantes no VE, em ratos magros (alimentados com dieta padrão) e obesos (alimentados com dieta hiperlipídica).

As hipóteses acima foram levantadas para ratos obesos exógenos pela utilização de dieta hiperlipídica.

4. MATERIAIS MÉTODOS

4.1 Aprovação do Comitê de Ética

Os aspectos éticos deste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética para Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos, sob número 31/2009. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com o guia de cuidados e manuseio de animais laboratoriais dos Estados Unidos da América (*National Research Council's*, 1996).

4.2 Animais e Condições Experimentais

Foram utilizados 60 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus* var. albinus, Rodentia, Mammalia) com idade de 30 dias, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Durante todo o período experimental (12 semanas), os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, da Universidade Federal de São Carlos, com temperatura constante ao redor de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e foto-período artificial de 12:12 (claro/escuro) com regime claro iniciando às 07:30 h.

4.3 Protocolo e Grupos Experimentais

Os animais foram mantidos em caixas coletivas (5 ratos por caixa) até a data de início de indução à obesidade. Neste período tiveram acesso *ad libitum* a água filtrada e ração padrão da marca PRIMOR[®] (São Paulo, Brasil). Ao completarem 90 dias de idade, os animais foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos experimentais (30 animais por grupo) e mantidos em caixas individuais na seguinte ordem: 1) Grupo Controle Dieta Padrão (CT-P) e 2) Grupo Controle Dieta Hiperlipídica (CT-H). Após três semanas de indução à obesidade, 10 animais de cada grupo CT sofreram eutanásia para identificação do estado antioxidante e atividade da MMP-2 precisamente antes do início do protocolo de exercício. Os animais restantes foram novamente divididos em quatro novos grupos, na seguinte ordem: 20 animais do grupo CT-P foram divididos aleatoriamente em dois outros grupos (10 animais cada) 3) Grupo Sedentário Dieta Padrão (SED-P) e 4) Grupo Treinado Dieta Padrão (TR-P); e 20 animais do grupo CT-H foram divididos aleatoriamente em dois novos grupos (10 animais

cada) 5) Grupo Sedentário Dieta Hiperlipídica (SED-H) e 6) Grupo Treinado Dieta Hiperlipídica (TR-H).

A figura 6 ilustra esquematicamente o desenho experimental deste estudo.

GRUPOS CONTROLE:

- **Grupo Controle Dieta Padrão (CT-P):** Os animais foram alimentados com dieta padrão (PRIMOR[®]) e água filtrada *ad libitum* durante três semanas.
- **Grupo Controle Dieta Hiperlipídica (CT-H):** Animais receberam dieta hiperlipídica e água filtrada *ad libitum* durante três semanas para desenvolvimento da obesidade.

GRUPOS SEDENTÁRIOS:

- **Grupo Controle Sedentário Dieta Padrão (SED-P):** Os animais foram alimentados com dieta padrão (PRIMOR[®]) e livre acesso a água filtrada durante todo período experimental (oito semanas).
- **Grupo Controle Sedentário Dieta Hiperlipídica (SED-H):** Animais receberam dieta hiperlipídica e água filtrada *ad libitum* durante todo período experimental.

GRUPOS TREINAMENTO RESISTIDO EM ESCADA:

- **Grupo Treinado Dieta Padrão (TR-P):** Realizaram o treinamento resistido por oito semanas com ajuste de carga como apresentado pelo protocolo descrito.
- **Grupo Treinado Dieta Hiperlipídica (TR-H):** Realizaram o treinamento resistido por oito semanas com ajuste de carga como apresentado pelo protocolo descrito.

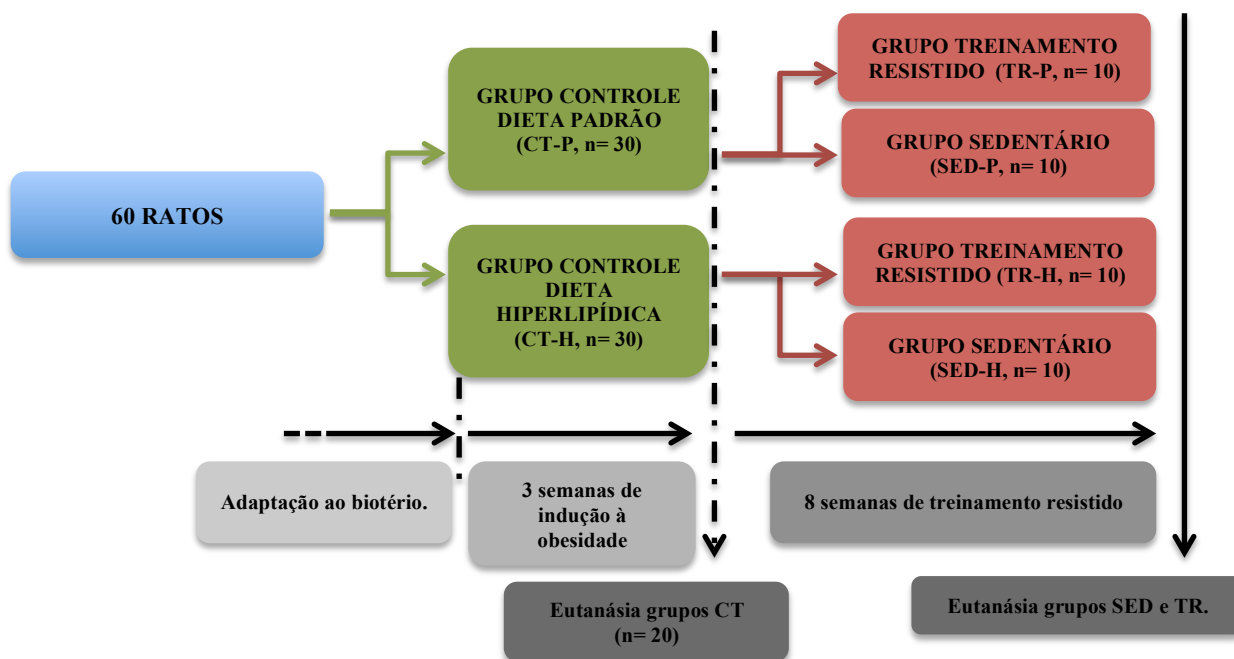


Figura 6. Esquema do desenho experimental do estudo.

4.4 Composição das Dietas

4.4.1 Dieta padrão

Para a dieta padrão foi utilizada ração balanceada da marca PRIMOR[®] (São Paulo, Brasil) contendo a cada 100g:

- 2g de proteína,
- 49g de carboidrato,
- 4g de lipídio (4%),
- 5g de fibra,
- 7g de cinza e
- 6g de vitaminas, conforme fornecido pelo fabricante.

4.4.2 Dieta hiperlipídica

Para a dieta hiperlipídica foi utilizada dieta previamente padronizada (Estadella *et al.*, 2004), contendo 22,33% de lipídios, conforme indicado na análise Bromatológica (figura 7).

Essa dieta é preparada por uma mistura hiperlipídica, na seguinte proporção:

- 15g de ração balanceada da marca PRIMOR[®];
- 10g de amendoim torrado;
- 10g de chocolate ao leite;
- 5g de bolacha maisena,;

seguindo a proporção 3:2:2:1. Esses constituintes foram moídos, misturados e oferecido aos ratos na forma de pellets.

4.6 Bromatologia

A composição quantitativa e qualitativa da ração hiperlipídica, foi determinada pela análise bromatológica (figura 7) realizada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pecuária sudeste, São Carlos, São Paulo, Brasil.

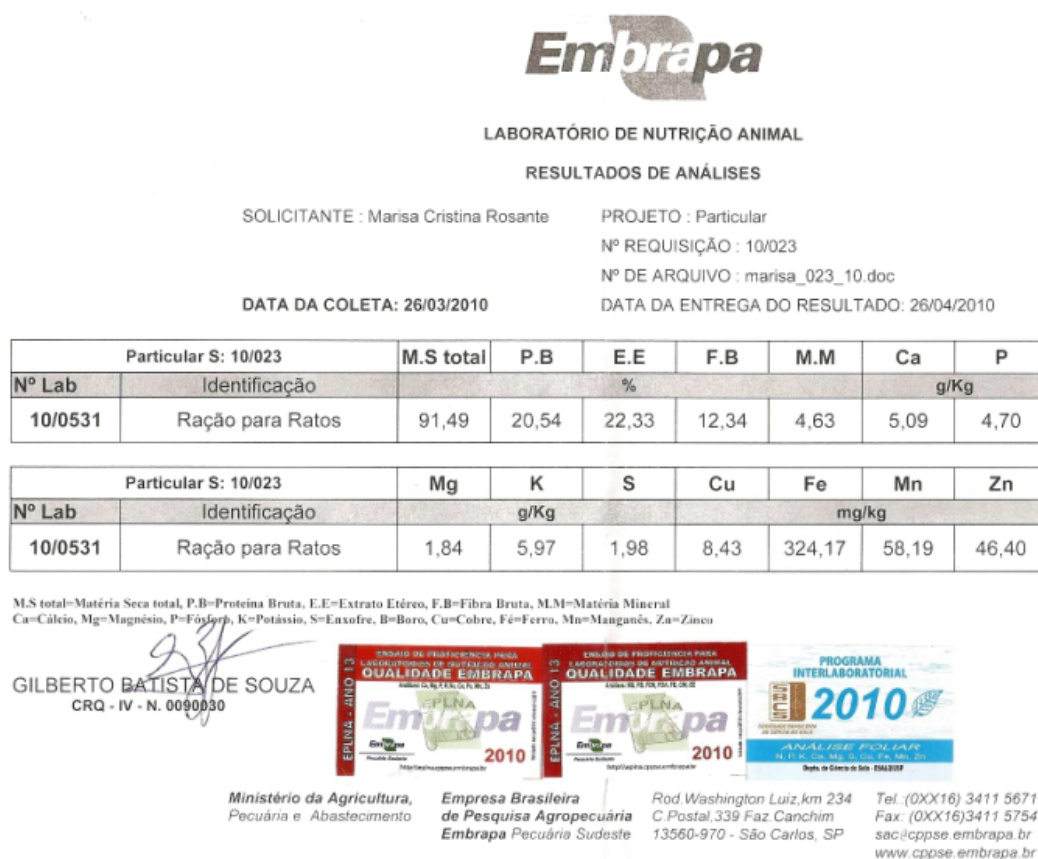


Figura 7. Análise Bromatológica da dieta hiperlipídica ofertada *ad libitum*.

4.7 Ganho de Massa Corporal

A massa corporal de cada animal foi mensurada diariamente, durante todo o período experimental, às 07:30 da manhã, utilizando-se balança da marca Masté[®], modelo AS 2000C, com menor fração de 0,01g e divisões de verificação de 0,1g, regulada pelo INMETRO.

Para determinação da variação do Δ de massa corporal (em porcentagem) foi calculado a massa corporal no final de cada semana e subtraído o valor da massa corporal inicial multiplicado por 100, e assim sucessivamente para cada semana até o final do período experimental.

$$\Delta\% \text{ massa corporal} = (\text{massa corporal final} - \text{massa corporal inicial}) \times 100$$

4.8 Consumo Alimentar

O consumo alimentar foi calculado por meio da diferença de peso entre a ração ofertada e as sobras.

$$\text{Consumo Alimentar} = (\text{ração ofertada} - \text{sobra da ração ofertada})$$

4.09 Protocolo de treinamento resistido de alta intensidade em escada

O treinamento resistido de oito semanas foi realizado uma vez a cada três dias (tabela 3). Inicialmente, os animais passaram pelo processo de familiarização ao protocolo de treinamento resistido, onde os animais escalaram uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2-cm, inclinação de 80°) com um aparato de carga sem peso preso as suas caudas (figura 8).



Figura 8: Protocolo de Treinamento de Resistido em Escada, adaptado de Hornberger e Farrar (2004).

O tamanho da escada induz os animais a realizem de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato de carga foi preso à porção proximal da cauda com uma fita auto-adesiva (figura 8). Com o aparato fixado a cauda, os ratos foram colocados na parte inferior da escada e familiarizados com a escalada (figura 9 A). Quando necessário um estímulo com pinça era aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento de escalada. No topo da escada os ratos alcançavam uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde descansavam por um período de 120 segundos (Figura 9 B). Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem, voluntariamente, escalar a escada três vezes consecutivas sem a necessidade de estímulo.

Três dias após a familiarização, a primeira sessão de treinamento consistiu de 4-8 escaladas com cargas progressivamente mais pesadas. A primeira escalada consistiu em carregar uma carga de 75% da massa corporal do animal. Após 120 segundos de recuperação, a segunda escalada foi realizada com a adição de um peso de 30g (figura 9 D). Este acréscimo de carga (+ 30g) foi repetido consecutivamente em cada escalada até uma carga com a qual o rato não conseguisse escalar toda a escada. A falha em escalar foi determinada quando o animal não conseguisse 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 do rato para aquela sessão de treinamento.

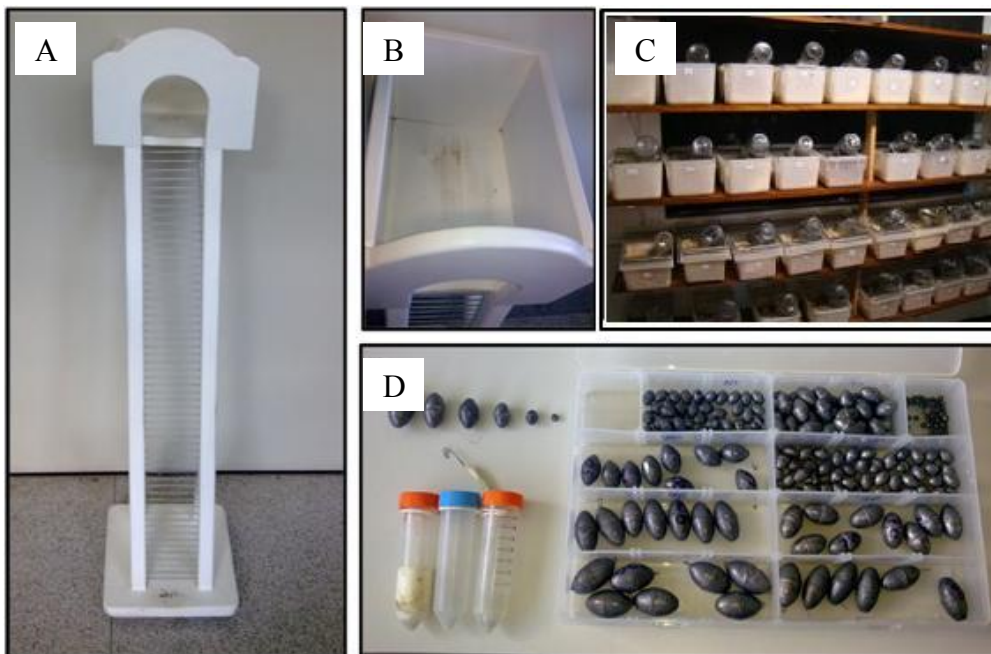


Figura 9. Estruturas e equipamentos utilizados durante o treinamento resistido. A, escada vertical; B, gaiola de descanso durante o treinamento resistido; C, biotério com os animais em caixas individuais; D, aparatos e pesos utilizados durante o treinamento resistido.

As sessões de treinamento consistiram de quatro escaladas com 50%, 75%, 90% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior. Durante as escaladas subsequentes foram adicionados 30g até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada, com um total máximo de 9 escaladas. Esta padronização de sessões de treinamento foi realizada durante as oito semanas, totalizando 20 sessões de treinamento de força. O protocolo de treinamento de força foi adaptado de Hornberger e Farrar (2004), de acordo com as necessidades do presente estudo.

Tabela 3. Organização dos dias de treinamento resistido.

DOMINGO	SEGUNDA	TERÇA	QUARTA	QUINTA	SEXTA	SÁBADO
X	Familiarização	X	X	Familiarização	X	X
Carga máxima	X	X	Sessão de treino	X	X	Sessão de treino

X= período de recuperação entre as sessões.

14.10 Volume Total de Carga de Carregamento e Carga relativa total de Carregamento

Para o cálculo do volume total de carga de carregamento semanal foi somada a carga de cada escalada que o animal realizava até a exaustão de cada sessão na semana.

Volume Total de carga de carregamento (kg)= (semana 1/sessão 1 (carga escalada 1 + carga escalada 2 ... + carga da última escalada) + sessão 2 (carga escalada1 + carga escalada 2 ... + carga última escalada) ... + última sessão (carga escalada1 + carga escalada 2 ... + carga última escalada).

Para o cálculo da carga relativa total de carregamento, a massa da carga de carregamento foi dividida pela massa corporal do seu respectivo animal e expresso em g/g:

$$\text{Volume de Carga relativa total de carregamento} = (\text{carga de carregamento} / \text{massa corporal})$$

4.11 Eutanásia e Coleta do Ventrículo Esquerdo

Os animais de todos os grupos experimentais sofreram eutanásia por decapitação em guilhotina ao final de três semanas de indução à obesidade (CT-P e CT-H) e após oito semanas de treinamento (SED-P, SED-H, TR-P e TR-H). Os animais treinados sofreram eutanásia 24 horas após a última sessão de exercício. Após a eutanásia, o coração de cada animal foi retirado, drenado de sangue, lavado com solução salina gelada, pesado e transferidos para tubo criogênico e armazenado em nitrogênio líquido. Todos os corações foram estocados em freezer a -80°C para posteriores análises.

Para evitar um constante descongelamento e recongelamento, o ventrículo esquerdo foi isolado, pesado e separado em cinco porções (figura 10), armazenados em tubos criogênicos rotulados de A a E e armazenados em freezer -80°C para posteriores análises (tabela 4). O procedimento descrito acima foi realizado para todos dos VE de cada animal dos grupos analisados neste estudo.

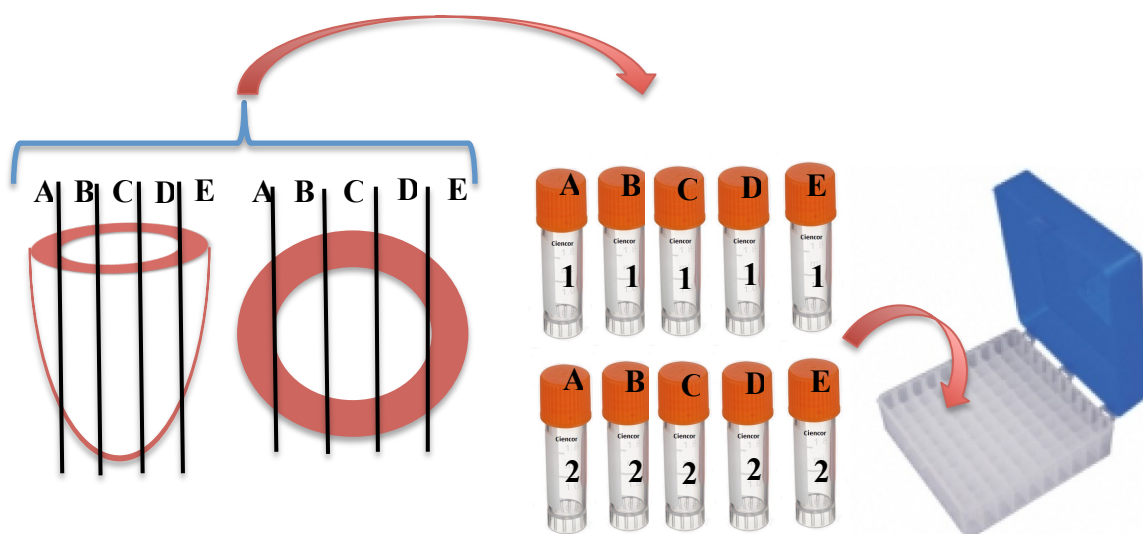


Figura 10. Figura ilustrativa da separação das cinco porções (A a E) do VE para armazenamento em freezer - 80°C para evitar o descongelamento e recongelamento das amostras.

Tabela 4. Porções do VE e análises realizadas com cada porção.

Porção	Análise
A	Estresse Oxidativo
B	Estresse Oxidativo
C	Zimografia
D	Citrato Sintase e Conteúdo Lipídico Total
E	Espécies Reativas do Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

4.12 Quantificação de Proteína para Zimografia, Método BCA

A concentração de proteínas totais foi determinada por meio do método BCA, utilizando-se kit comercial (Pierce®, *BCA protein assay reagent*). As concentrações de proteínas totais foram apresentadas em mg/g de tecido.

O método do ácido bicinonínico (BCA) permite a detecção colorimétrica e a quantificação de proteína. Este método combina a redução de Cu^{2+} a Cu^+ por proteínas em meio alcalino (reação do biureto) com a detecção colorimétrica, muito sensível e seletiva, do íon Cu^+ usando um reagente contendo ácido bicinonínico (Pierce). Nesta reação forma-se um produto de cor roxa, solúvel em água, com forte absorvância a 562 nm, que é linear com concentrações crescentes de proteína, ao longo de uma gama extensa de concentrações de proteína (20 mg/ml – 2000 mg/ml) (<http://www.piercenet.com/instructions/2161296.pdf>, acessado em 02/02/2013).

4.13 Detecção da atividade enzimática da MMP-2 por Zimografia

Foi utilizado 50 mg dos ventrículos esquerdos (VE) os quais foram lavados de 3 a 4 vezes com solução salina gelada e incubados 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 24 horas. Após este tempo, o tampão de extração foi coletado por centrifugação a 13.000 x g por 20 minutos.

Primeiramente, foi realizado teste para padronização de intensidade das bandas observadas no gel. Para tal, alíquotas da mesma amostra do grupo SED-P, em várias concentrações de proteínas diferentes (10, 20, 30, 40 e 50 µg/µl), foram submetidas a SDS-PAGE (protocolo abaixo). Após a identificação da concentração de proteínas adequada foi realizado o protocolo abaixo.

O extrato tecidual foi testado quanto a presença de atividade genatinolítica pela técnica de Zimografia (Marqueti *et al.*, 2012). Alíquotas das amostras contendo 30 µg/µl de proteínas foram submetidas a SDS-PAGE com gelatina (1mg/ml). A corrida de eletroforese foi realizada em geladeira (com porta de vidro) a 4 ° C, sem incidência direta de luz, sendo para isso colocado um material preto (cartolina preta) para bloquear a incidência de luz diretamente sobre o gel durante a eletroforese. Após a corrida em eletroforese 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. Para a identificação da altura das bandas no gel foi utilizado 6 µl de Marcador de massa molecular pré-corado da marca *Fermentas* (SM0671) (figura 11).

O controle negativo da atividade da MMP-2 em extrato tecidual (figura 12) foi realizado pela mesma técnica acima descrito, 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 megapixels (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 (figura 11).

As médias de intensidade luminosa da banda foram mensuradas por meio do software *Gene Tools*. As bandas encontradas em todos os grupos foram de 72–62 kDa, sugerindo a ativação da MMP-2 conforme proposto por (Birkedal-Hansen, 1995).

As imagens foram analisadas por densitometria utilizando-se o software *Image Pro-Plus*.

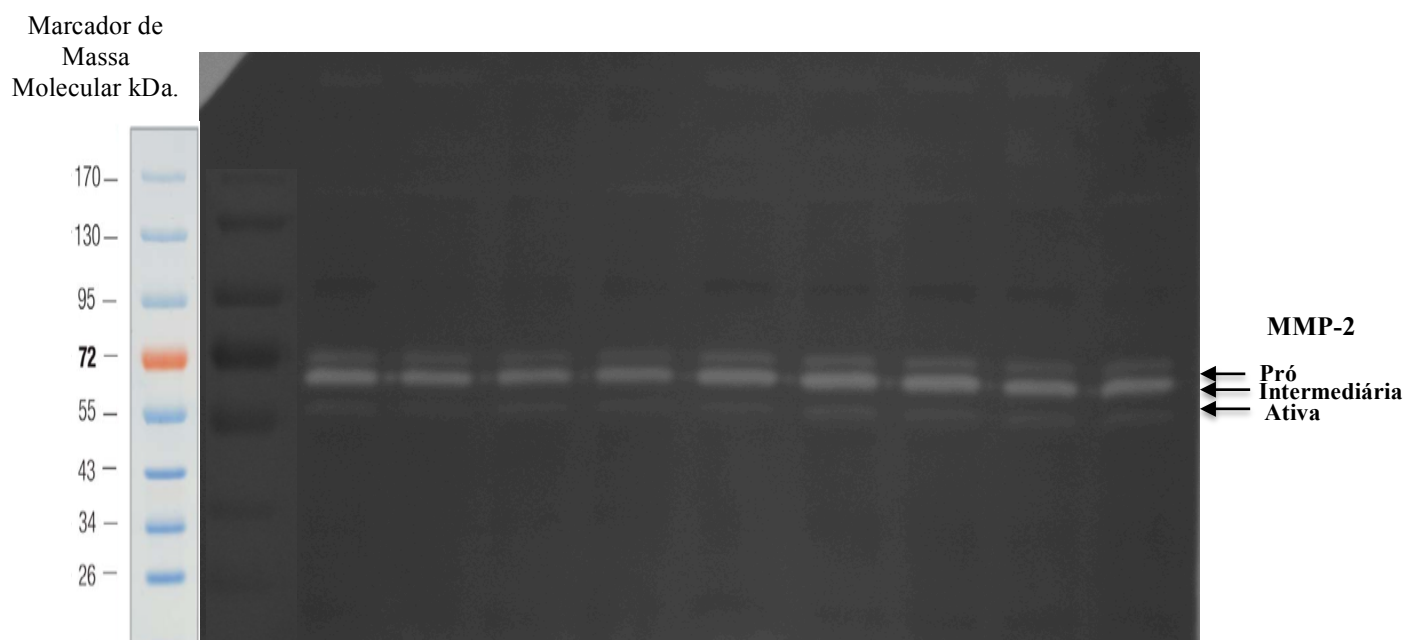


Figura 11. Figura representativa de um gel de SDS-PAGE.

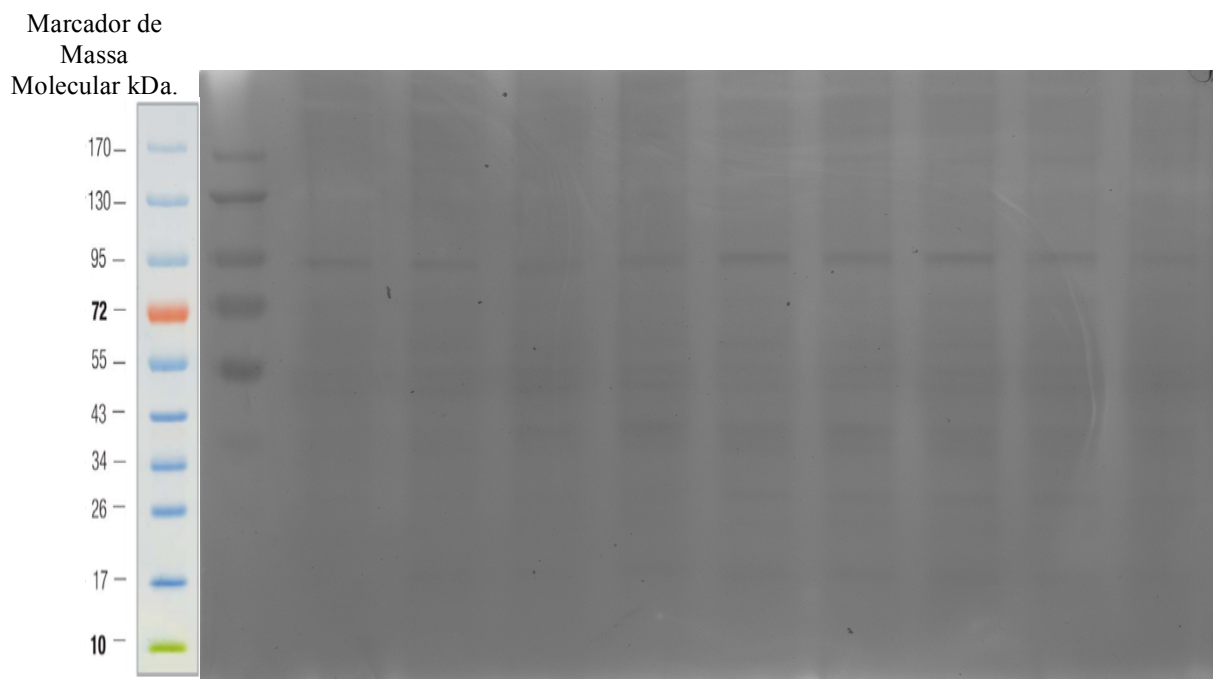


Figura 12. Figura representativa de um gel de teste negativo em SDS-PAGE com EDTA a 450 mM adicionadas às amostras e ao tampão de incubação.

4.14 Ensaio de atividade enzimática da SOD e CAT

Os kits de análises (Assay Kits) da empresa Cayman Chemical foram utilizados para análise da atividade enzimática das seguintes enzimas:

Superóxido Dismutase total e mitocondrial (SOD Total e Mn-SOD)

Foi utilizando o kit Cayman (n°. 706002). Para a SOD Total, 50 µg do VE foram homogeneizados em 500 µl de tampão HEPES gelado (20 mM, pH 7,2), contendo 1 mM de EGTA, 210 mM de manitol, e 70 mM de sacarose por grama de tecido. O extrato era centrifugado a 1.500 x g por cinco minutos a 4 ° C. O sobrenadante era removido e armazenado em gelo. Para Mn-SOD, todos os procedimentos acima eram realizados, além de procedimentos adicionais: o sobrenadante era novamente centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos a 4 ° C. O resultante da última centrifugação era um pellet com a Mn-SOD. O pellet era homogeneizado em tampão gelado (20 mM de HEPES, pH 7,2, contendo 1 mM de EGTA, 210 mM de manitol, e 70 mM de sacarose). Era adicionado, para Mn-SOD, potássio 1-3 mM de cianeto no ensaio para inibir tanto a Cu/Zn-SOD quanto a SOD extracelular, resultando na

detecção de atividade da Mn-SOD. O ensaio era realizado utilizando um sal de tetrazólio para a detecção de radicais superóxido gerados por xantina oxidase e hipoxantina. A absorbância era lida a 440 nm num leitor de placas (Marklund, 1980; Beckman e Koppenol, 1996). Todas as amostras foram analisadas no mesmo dia.

Catalase (CAT)

Foi utilizado o kit Cayman (n°. 707002). Para o ensaio, 50 mg do VE era homogeneizado em 500 µl em tampão gelado sobre gelo contendo 50 mM de fosfato de potássio, pH 7,0, contendo EDTA 1 mM por grama de tecido. O homogeneizado era centrifugado a 10.000 x g durante 15 minutos a 4 ° C. O sobrenadante era removido e armazenamento em gelo. O ensaio utiliza a função peroxidativa da CAT para a determinação da atividade da enzima. O método baseia-se na reação da enzima com metanol na presença de uma concentração ótima de H₂O₂. O formaldeído produzido era lido colorimetricamente com 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (Purpald) como cromogênio. O 1, 2 Purpald especificamente forma um heterociclo bicíclico com aldeídos, que após mudanças de oxidação a partir do incolor a uma cor púrpura. A absorbância era lida a 540 nm em leitor de placa (Johansson e Borg, 1988; Wheeler, Salzman *et al.*, 1990). Todas as amostras foram analisadas no mesmo dia.

4.15 Ensaio da atividade enzimática da Glutathione Peroxidase (GPx)

Para o ensaio da atividade da GPx e GSH no tecido, o homogeneizado consistia de uma porção de 50 mg do VE em 500 µl de tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0 contendo sacarose 0,25 M, na proporção 1:1. As amostras eram homogeneizadas em banho de gelo, por meio de pistilo de teflon rotativo em baixa velocidade. Posteriormente, eram centrifugadas por 10 minutos a 15.000 x g a 4° C. O sobrenadante era utilizado como fonte de enzima.

A glutathione peroxidase (GPx) era determinada pelo método de Beutler (1984), por meio da reação glutathione redutase e da oxidação do NADPH, utilizando o hidroperóxido como substrato. Para a determinação enzimática foram adicionados à cubeta de 1 ml: 100 µl de Tris-EDTA 1 M pH 8,0, 20 µl GSH 0,1 M, 100 µl glutathione redutase 10 U/ml, 100 µl de NADPH 2 mM, 380 µl de azida sódica 2,6 µM, volume apropriado de homogeneizado e um volume de água destilada para completar 970 µl. Esta amostra foi pré-incubada por 2 minutos.

Após este passo, eram adicionados 30 μ l de t-butilhidroperóxido 7 mM. O decréscimo da densidade óptica foi determinado contra um branco a 340 nm. O valor do coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo foi de $6,20 \text{ (mM.cm)}^{-1}$.

4.16 Quantificação da Glutathiona Reduzida (GSH)

A quantificação de glutathiona reduzida foi feita segundo Beutler (1984). Este método baseia-se na reação entre GSH e DTNB com formação de TNB, um produto de cor amarelada.

50 mg do VE foram homogeneizados, sob banho de gelo, em tampão de Na 0,2M pH 7. Em seguida, os homogeneizados eram centrifugados a $15.000 \times g$ por 10 min a 4° C . Ao sobrenadante era adicionados 500 μ l de ácido tricloroacético (TCA 20%), e realizada outra centrifugação a $8.000 \times g$ por 5 min, a 4° C .

Para a reação foram retirados alíquotas apropriadas de sobrenadante dos extratos ácidos e em seguida, eram adicionados 400 μ l de tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 8; 100 μ l de DTNB (ácido 5,5` - ditiobis - 2 - nitrobenzóico, 2,5 mM) e água destilada em um volume final de reação de 1 ml. O conteúdo de glutathiona reduzida foi determinado a partir de leitura óptica da formação do ânion tiolato em 412 nm, contra um padrão de 100 nmol de glutathiona.

4.17 Determinação da Peroxidação Lipídica (TBARS)

Para a determinação da peroxidação lipídica, foi analisado as espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando kit Cayman (n°. 10009055). Aproximadamente 25 mg do VE era homogeneizado em 250 μ l em tampão RIPA (*RIPA BUFFER*) sobre gelo. O homogeneizado era centrifugação a $1.600 \times g$ durante 10 minutos a 4° C . O sobrenadante era usado como fonte de enzima. O aduto de TBA-MDA formado pela reação do MDA e TBA sob temperatura elevada ($90-100^\circ \text{ C}$) e condições de acidez. A reação era lida colorimetricamente a 540 nm no leitor de placa (Ohkawa, Ohishi *et al.*, 1979). Todas as amostras foram analisadas no mesmo dia.

4.18 Determinação de proteínas pelo método de Bradford

A concentração de proteínas foi determinada utilizando-se a metodologia descrita por Bradford (1976), com albumina de soro bovino (BSA) (Sigma) como padrão. Foi construída uma curva padrão baseada nas concentrações de 0,2mg/ml a 1 mg/ml de BSA, com adição de *Dye Reagent (BioRad Protein Assay)*. A absorbância das soluções da curva padrão e das amostras foram lidas por espectofotometria a 595 nm e então foi estimada a concentração proteica.

A quantidade de proteína de cada amostra foi utilizada para estimar a atividade específica das enzimas analisadas.

4.19 Determinação da concentração de lipídios totais

A concentração de lipídios totais foi determinada pelo método colorimétrico sulfosfovalina-vanilina, adaptado para tecidos. Foi utilizado 50mg do VE de cada animal para a determinação da concentração de lipídios (FRINGS et al., 1972). O procedimento inicia-se com a adição de 20µl de água padrão ou “sérum para cuvets” de 19 mm. Adicionava-se 0,20ml de ácido sulfúrico concentrado para cada cuvet e misturando bem o conteúdo em mixer tipo vortex. Os cuvets eram colocados em água fervente por 10 minutos (dp=1m) então eram resfriado em água por aproximadamente 5 minutos. Após este procedimento era adicionado 10 ml do reagente fosfovanillina para cada cuvet, misturando bem em vortex e incubado a 37° C ($\pm 2^\circ$) em banho-maria por quinze minutos. Os cuvets eram resfriados por aproximadamente 5 minutos e então a medida era realizada dentro de 30 minutos em 540nm.

4.20 Ensaio da atividade enzimática da Citrato Sintase

Para o ensaio da atividade da citrato sintase foi utilizado o kit de análises da empresa Sigma (CS Assay Kit CS0720 - Sigma). A atividade foi determinada utilizando 50 µg do VE em tampão (0,2 mM de acetil-CoA, 0,5 mM de OAA, e 0,1 mM DTNB em 100 mM Tris-HCl (pH 7,5)). A reação era lida em espectofotometria a 412 nm (Morgunov e Srere, 1998).

5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados obtidos foram testados ou transformados logaritmicamente e submetidos ao teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) para definição do tipo de teste (paramétrico ou não paramétrico). Utilizou-se o teste t de *Student* para os dados paramétricos, e o teste U de *Mann-Whitney*, para os dados não paramétricos, para detecção de possíveis diferenças entre dois grupos distintos (CT-P e CT-H; SED-P e SED-H, TR-P e TR-H). O intervalo de confiança adotado foi de 95%. Foi verificado o $Q-Q$ plot para os dados analisados para se obter informações sobre a homogeneidade da variância, observado pelo teste de Levene ($p > 0,05$) para igualdade de variâncias. O nível de significância estatística adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$). Para análise das possíveis diferenças entre os vários grupos estudados e interação entre tempo e dieta; dieta e treinamento resistido, foi utilizado o teste de análise de variância de dois fatores (ANOVA, *Two-Way*), levando-se em consideração dois fatores intervenientes em dois momentos diferentes. Primeiro momento (tempo de vida e dieta hiperlipídica) para os grupos CT e SED, e o segundo momento (treinamento resistido e dieta hiperlipídica) para os grupos SED e TR, seguido do teste *Post Hoc* de Tukey de comparações múltiplas (dados paramétricos).

Para as análises de correlação foi utilizado o teste de *Pearson* (dados paramétricos) e o teste de *Spearman* (dados não paramétricos) quando apropriados. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e o nível de significância estatística adotado foi o de 5% ($p < 0,05$).

Para análise estatística foi utilizado o software IBM SPSS[®] *Statistics*, versão 20 para *Macintosh*.

Todos os gráficos foram confeccionados no software *GraphPad Prism*[®], versão 5 para *Macintosh*.

6. RESULTADOS

6.1 Resultados da primeira fase do estudo, três semanas de indução à obesidade

6.1.1 Massa Corporal

Com o teste *t* observamos que a variação da massa corporal não foi significativa nos animais do grupo CT na primeira semana. Para as demais semanas, o ganho de massa corporal foi maior no grupo CT-H quando comparado com o CT-P ($p < 0,05$) (figura 13 A). A massa corporal na semana 0 (semana inicial) de ambos os grupos foi igual. A evolução da massa corporal dos animais foi significativamente maior para o grupo CT-H nas três semanas seguintes quando comparado ao CT-P ($p < 0,01$) (figura 13 B). A variação de ganho de massa corporal final para o grupo CT-H foi de $\approx 17\%$ e para o CT-P foi de $\approx 13\%$.

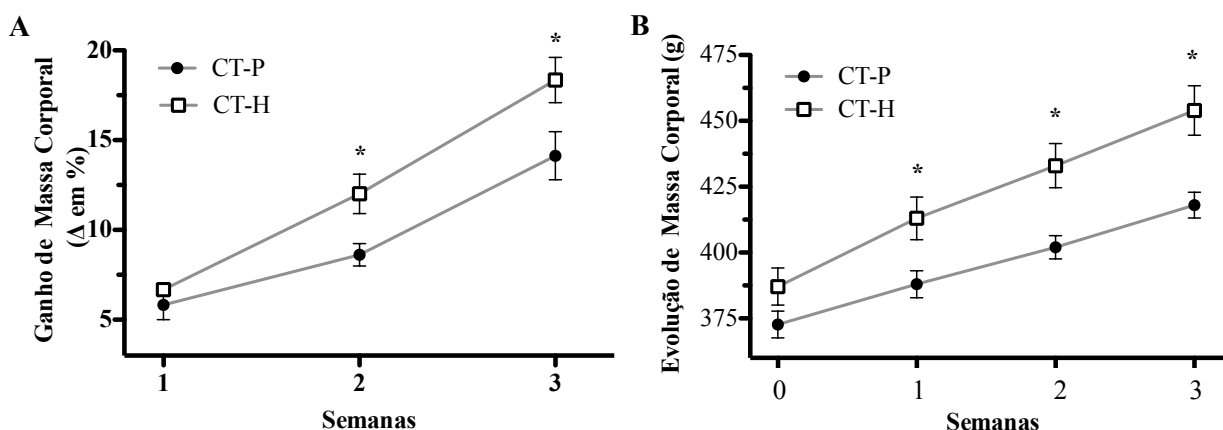


Figura 13. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal no período de indução à obesidade. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H). Gráfico **A** representa ganho de massa corporal apresentados em Δ em % ((massa corporal segunda semana – massa corporal inicial) \times 100)) para cada semana. Gráfico **B** representa evolução de massa corporal (g) em cada semana. * representa diferença estatística ($p < 0,05$) Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.1.2 Variação da relação massa do coração e VE/MC

A dieta hiperlipídica foi eficiente em promover o aumento da massa do VE ($p < 0,05$) no grupo CT-H comparado ao grupo CT-P. Também observamos menor valor para a massa relativa VE/MC no grupo CT-H ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística para as demais variáveis dependentes analisadas quando comparadas CT-P versus CT-H e SED-P versus SED-H (tabela 5).

Tabela 5. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.

	VE	CT-P	CT-H
CORAÇÃO (g)		1,73 ± 0,07	1,70 ± 0,09
VE (mg)		0,60 ± 0,02	0,64 ± 0,01 ^a
CORAÇÃO/MC (mg/g)		4,45 ± 0,19	4,00 ± 0,20
VE/MC (mg/g)		1,55 ± 0,06	1,50 ± 0,2 ^a

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), Ventrículo esquerdo (VE), massa corporal (MC). Valores relativos (coração/MC) (mg/g), (ventrículo esquerdo/MC) (mg/g). A letra sobrescrita representa a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.1.3 Atividade da Citrato Sintase

Observamos em nosso estudo que a dieta hiperlipídica foi capaz de promover um menor atividade enzimática da citrato sintase no grupo CT-H ($p < 0,05$) quando comparado ao grupos CT-P.

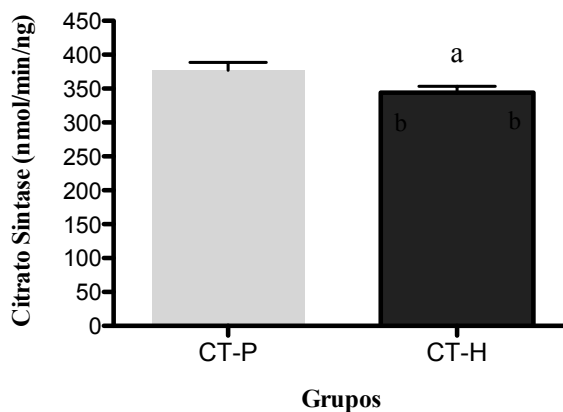


Figura 14. Atividade da citrato sintase no VE. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), A letra sobrescrita representa a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.1.4 Conteúdo Lipídico Totais

A dieta hiperlipídica não foi capaz de promover modificações no teor de lipídios totais nos grupos experimentais CT-P e CT-H.

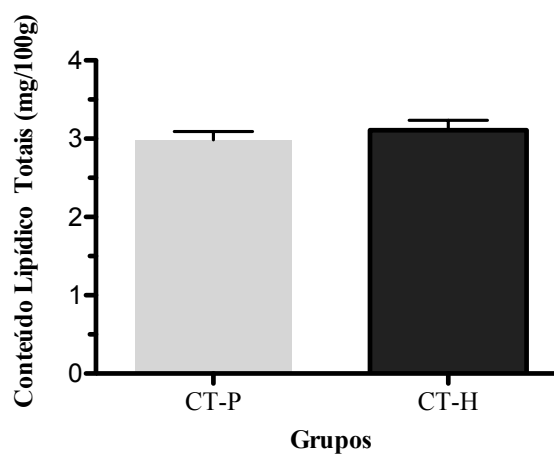


Figura 15. Conteúdo lipídico totais no VE (mg de tecido/100g massa corporal ((mg/g)). Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), A letra sobrescrita representa a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.1.5 Atividade da MMP-2 por Zimografia

Para a Pró MMP-2 e Intermediária, observamos que houve uma atividade significativamente menor para o grupo CT-H ($p < 0,001$). Observamos que para a MMP-2 Ativa, a dieta hiperlipídica foi capaz de promover o aumento significativo na atividade da MMP-2 ($p < 0,001$) para o grupo CT-H quando comparado ao CT-P (figura 16).

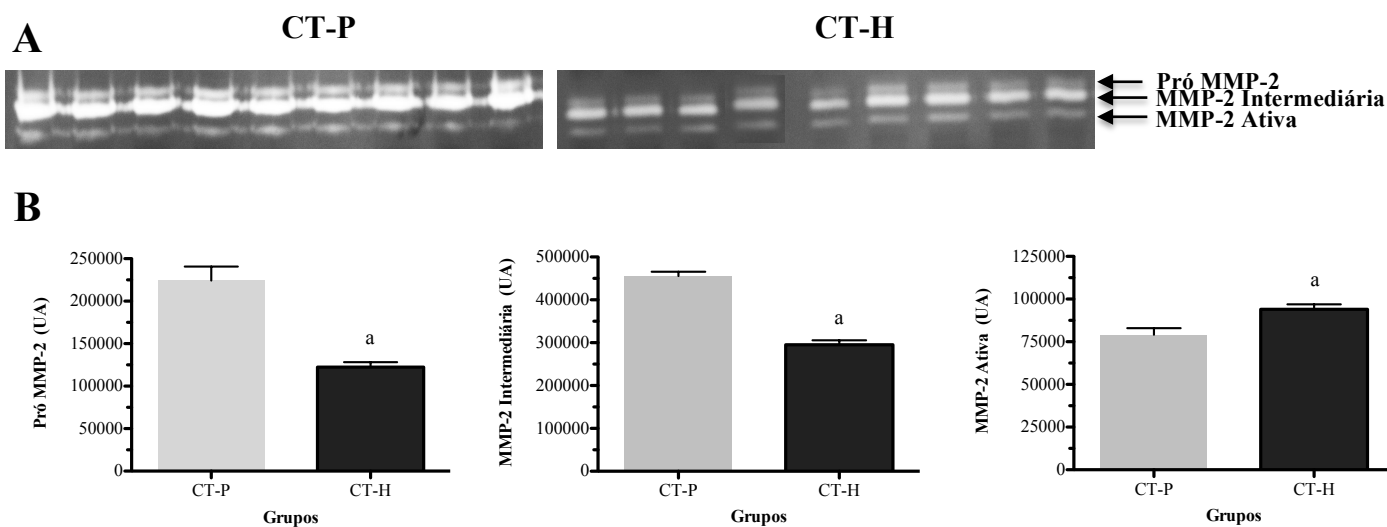


Figura 16. Efeito da indução à obesidade pela dieta hiperlipídica na atividade da MMP-2. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), A – Ensaio de Zimografia da MMP-2 nas suas isoformas Pró, Intermediária e Ativa no ventrículo esquerdo (VE); B – Gráficos representativos dos valores de atividade das isoformas da MMP-2 em unidades arbitrárias (UA). **a** = CT-P x CT-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student.

6.1.6 Atividade específica das enzimas antioxidantes, GSH e Peroxidação Lipídica

Observamos que o período de três semanas de indução à obesidade foi capaz de promover a peroxidação lipídica (TBARS) no VE do grupo CT-H comparado ao seu grupo controle alimentado com dieta padrão (CT-P) ($p < 0,03$).

Não foi observado alteração significativa nos valores da atividade enzimática específica para a SOD Total, Mn-SOD (mitocondrial), GPx e CAT entre os grupos CT-P versus CT-H. Para a GSH, também não houve diferença estatisticamente entre os grupos CT-P versus CT-H, assim como para a relação SOD/GPx e SOD/CAT.

Tabela 6. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).

VE	CT-P	CT-H
SOD Total (nmol/min/mg)	15,31 ± 0,75	16,77 ± 1,65
Mn-SOD (nmol/min/mg)	3,62 ± 0,25	3,75 ± 0,37
CAT (nmol/min/mg ⁻¹)	2,97 ± 0,09	3,10 ± 0,08
GPx (nmol/min/mg)	65,57 ± 5,67	76,25 ± 6,44
GSH (nmol/g)	1.115 ± 38	1.064 ± 65
TBARS (μM)	13,02 ± 0,35	14,93 ± 0,74 ^a
SOD/GPx	0,25 ± 0,03	0,24 ± 0,04
SOD/CAT	5,17 ± 0,25	5,52 ± 0,51

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Superóxido Dismutase total (SOD Total); Superóxido Dismutase mitocondrial (Mn-SOD); Catalase (CAT); Glutaciona peroxidase (GPx); Glutaciona reduzida (GSH), Espécies reativas ao ácido Tiobarbitúrico (TBARS); relação SOD com a GPx (SOD/GPx) e relação SOD com a CAT (SOD/CAT). Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H). A letra sobrescrita representa a comparação entre os grupos, ^a = CT-P x CT-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.2 Resultados da segunda fase do estudo, efeitos da dieta hiperlipídica por mais oito semanas.

6.2.1 Massa Corporal

Após o período de 8 semanas o grupo SED-H apresentou ganho de massa corporal maior a partir da terceira semana ($p < 0,006$) quando comparado ao SED-P (figura 17 A). A massa corporal dos animais de ambos os grupos sedentário (SED-P e SED-H) foram iguais no início do período de oito semanas a mais de dieta hiperlipídica. Foi observado massa corporal maior para o grupo SED-H na semana 1 ($p < 0,02$) e a partir da quarta semana ($p < 0,04$) quando comparado ao grupo SED-P (figura 17 B). O ganho de massa corporal final para o grupo SED-H foi de $\approx 26\%$ e para o SED-P $\approx 15\%$.

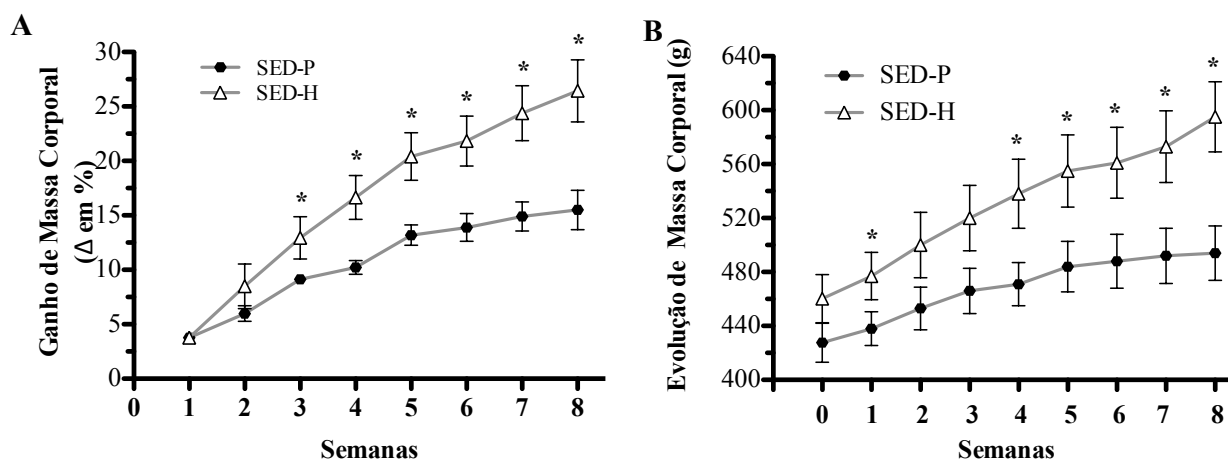


Figura 17. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H). Gráfico A, ganho de massa corporal apresentados em Δ em % ((massa corporal segunda semana – massa corporal inicial) \times 100) para cada semana. Gráfico B, evolução de massa corporal (g) em cada semana. * representa diferença estatística ($p < 0,05$) Teste t de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.2.2 Variação da relação massa do coração e VE/MC

Não houve interação entre tempo e dieta para as variáveis massa do coração, massa VE, massa relativa CORAÇÃO/MC e massa relativa VE/MC. Porém, para massa do VE e massa relativa VE/MC, houve diferença estatística para tempo ($p < 0,001$) e dieta ($p < 0,008$).

A massa do CORAÇÃO e a massa relativa CORAÇÃO/MC não modificaram nem com o tempo de vida maior nem com a dieta hiperlipídica entre os grupos CT e SED. Porém, observamos que para os animais com o tempo de vida maior alimentado com dieta padrão (SED-P) apresentaram massa do VE maior estatisticamente ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo CT-P. O mesmo resultado foi observado quando comparado os grupos SED-H ao CT-H para a mesma variável dependente. Também foi observado menores valores para a relação VE/MC para os grupos SED-P e SED-H ($p < 0,05$) comparado aos seus respectivos grupos (CT-P e CT-H) e para o grupo SED-H comparado ao SED-P ($p < 0,05$) (tabela 7).

Tabela 7. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.

VE	CT-P	CT-H	SED-P	SED-H
CORAÇÃO (g)	1,73 ± 0,07	1,70 ± 0,09	1,94 ± 0,16	1,89 ± 0,10
VE (mg)	0,60 ± 0,02	0,64 ± 0,01 ^a	0,71 ± 0,02 ^b	0,76 ± 0,01 ^b
CORAÇÃO/MC (mg/g)	4,45 ± 0,19	4,00 ± 0,20	3,90 ± 0,24	3,33 ± 0,29
VE/MC (mg/g)	1,55 ± 0,06	1,50 ± 0,2 ^a	1,46 ± 0,01 ^b	1,37 ± 0,03 ^{a, b}

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P) e sedentário dieta hiperlipídica (SED-H). Ventrículo esquerdo (VE), massa corporal (MC). Valores relativos (coração/MC) (mg/g), (ventrículo esquerdo/MC) (mg/g). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H / SED-P x SED-H / TR-P x TR-H; **b** = CT-P x SED-P / CT-H x SED-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney e ANOVA Tow-Way quando apropriados.

6.2.3 Atividade da Citrato Sintase

Não houve diferença estatística entre os grupos SED-P versus SED-H (teste *t*).

Não houve interação entre tempo e dieta. Porém, há diferença estatística na atividade enzimática da citrato sintase significativamente menor para os grupos que tiveram um tempo de vida maior (SED-P e SED-H) ($p < 0,001$), quando comparados aos seus respectivos grupos controle (CT-P e CT-H). Assim, tanto o grupo alimentado com dieta padrão e o alimentado com dieta hiperlipídica, que tiveram um período de vida maior, tiveram uma atividade enzimática menor (figura 18).

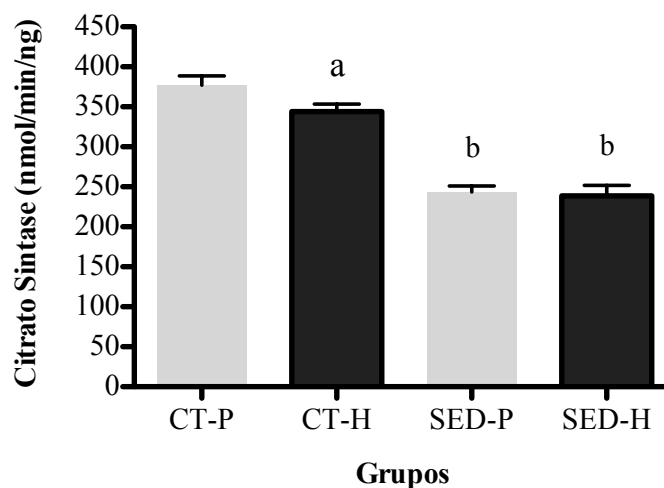


Figura 18. Atividade da citrato sintase no VE. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H / SED-P x SED-H e **b** = CT-P x SED-P / CT-H x SED-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney e ANOVA Tow-Way quando apropriados.

6.2.4 Conteúdo Lipídico Totais

A dieta hiperlipídica não foi capaz de aumentar o teor de lipídios totais nos grupos experimentais CT-H e SED-H.

Não houve interação entre os grupos CT e SED em relação ao tempo de vida e tipo de dieta assim como para a dieta. Contudo, houve diferença estatística para o tempo de vida maior de vida ($p < 0,001$). O tempo de vida mais prolongado do grupo SEP-H (oito semanas) foi capaz de aumentar o teor de lipídios totais ($p < 0,007$) quando comparado ao grupo CT-H (figura 19)

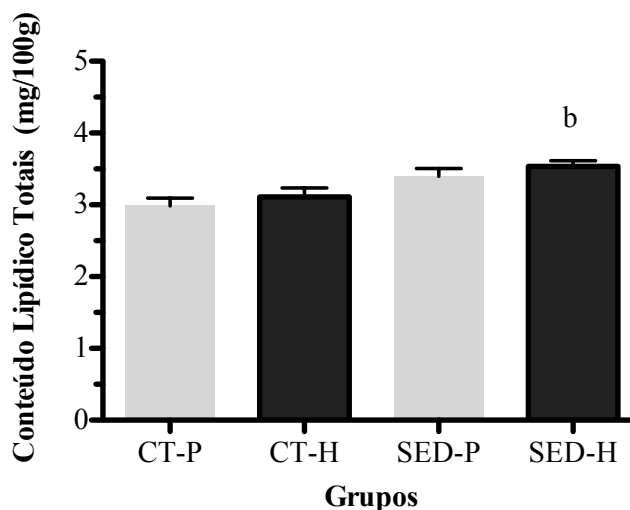


Figura 19. Conteúdo lipídico totais no VE (mg de tecido/100g massa corporal ((mg/g)). Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H / SED-P x SED-H e **b** = CT-P x SED-P / CT-H x SED-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney e ANOVA Tow-Way quando apropriados.

6.2.5 Atividade da MMP-2 por Zimografia

Não foi observado diferença significativa para a MMP-2 Pró, Intermediária e Ativa para o grupo SED-H quando comparados com o grupo SED-P (teste *t*).

Analisando o efeito do tempo e da dieta entre os grupos, observamos que houve interação entre tempo e dieta ($p < 0,01$). Também há diferença estatística para o efeito do tempo ($p < 0,008$) e dieta ($p < 0,001$) para a Pró MMP-2, Intermediária e Ativa.

Para a Pró MMP-2 e intermediária, foi observado uma atividade significativamente maior para o grupo CT-H e SED-P ($p < 0,001$) quando comparado ao grupo CT-P. Observamos que a dieta hiperlipídica foi capaz de promover aumento da atividade da MMP-2 Ativa para o grupo CT-H ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo CT-P e menor atividade para o SED-H comparado ao CT-H ($p < 0,05$).

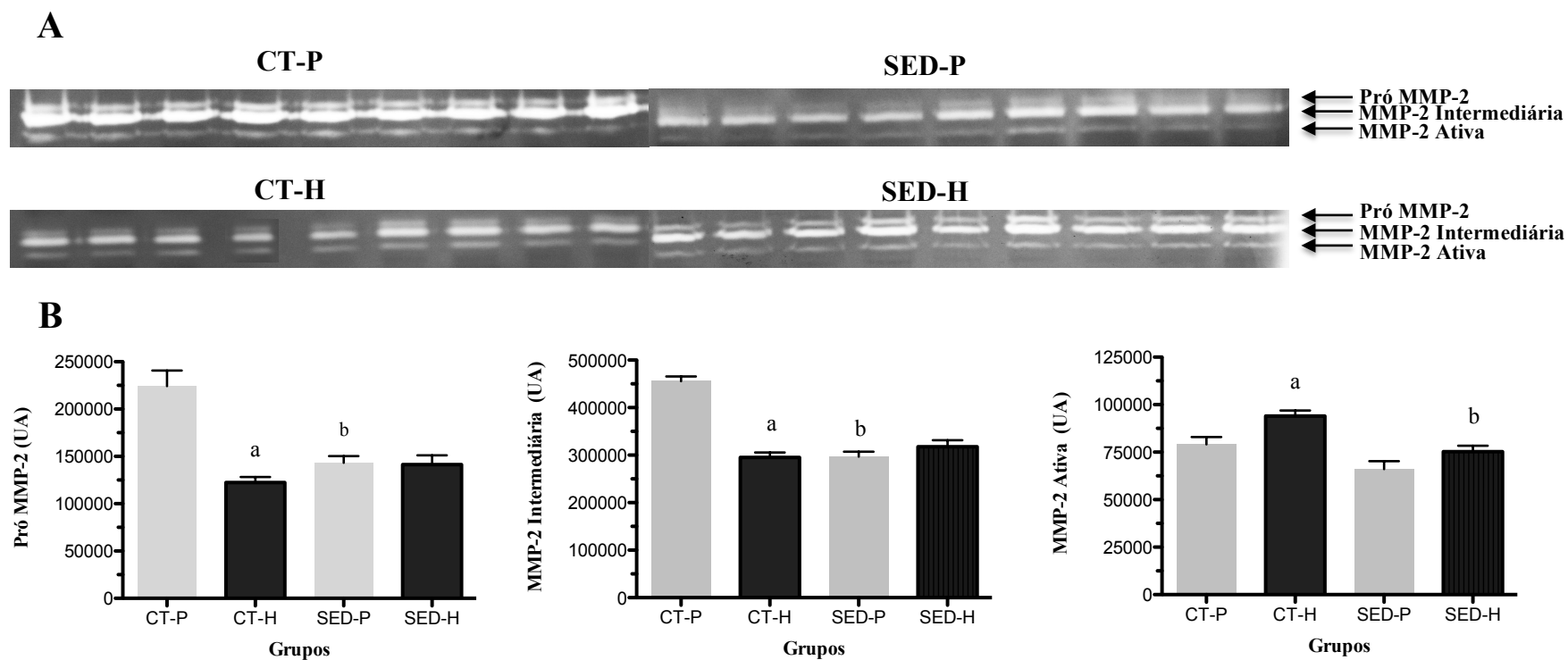


Figura 20. Efeito do Tempo de vida e da Dieta Hiperlipídica na atividade da MMP-2. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H). **A** – Ensaio de Zimografia da MMP-2 nas suas isoformas Pró, Intermediária e Ativa no ventrículo esquerdo (VE); **B** – Gráficos representativos dos valores de atividade das isoformas da MMP-2 em unidades arbitrárias (UA). **a** = CT-P x CT-H / SED-P x SED-H; **b** = CT-P x SED-P / CT-H x SED-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), Teste *t* de Student e ANOVA

Tow-Way

quando

apropriados.

6.2.6 Atividade específica das enzimas antioxidantes, GSH e Peroxidação Lipídica

Observamos em nosso estudo que a atividade específica da SOD Total, Mn-SOD (mitocondrial) e GPx não modificaram entre os grupos SED-P e SED-H. Porém houve uma menor atividade enzimática para a CAT entre os grupos SED-P versus SED-H ($p < 0,01$) e valores significativamente maior para a GSH entre os grupos SED-P versus SED-H ($p < 0,05$).

Observamos que, para o TBARS, não houve diferença estatística quando comparado o grupo SED-P versus SED-H.

Para a relação SOD/GPx e SOD/CAT não houve diferença estatística quando comparados o grupo SED-P versus SED-H (teste t).

A interação entre o maior tempo de vida e a dieta hiperlipídica foi capaz de aumentar significativamente a atividade da CAT ($p < 0,004$) e os valores da GSH ($p < 0,005$). O maior tempo de vida associado à dieta hiperlipídica aumentou a atividade da CAT e da GSH para o grupo SED-H ($p < 0,001$) quando comparado ao CT-H. Para as enzimas SOD Total, Mn-SOD (mitocondrial), GPx, para o TBARS e para a relação SOD/GPx e SOD/CAT não foi observado interação entre tempo e dieta. Não foi observado diferença estatística significativa para o efeito da dieta para todas as variáveis dependentes acima. Porém, houve diferença estatisticamente significativa para os grupos com o tempo de vida maior para a SOD Total ($p < 0,000$), Mn-SOD (mitocondrial) ($p < 0,000$), CAT ($p < 0,005$), TBARS ($p < 0,003$) e para a relação SOD/GPx ($p < 0,002$) e SOD/CAT ($p < 0,004$). Não foi observado diferença estatística em relação ao tempo de vida para a GPx, GSH e para a relação SOD/GPx.

Os dados deste estudo mostram que a atividade da SOD Total ($p < 0,01$) e Mn-SOD ($p < 0,002$), para a relação SOD/CAT ($p < 0,04$) são menores estatisticamente nos grupos que tiveram um tempo de vida maior (SED-P e SED-H), quando comparados aos seus respectivos grupos controle (CT-P e CT-H). A atividade da CAT foi estatisticamente menor ($p < 0,001$) para o grupo SED-H quando comparado ao CT-H. Um maior tempo de vida associado à dieta hiperlipídica foi capaz de promover um aumento significativo da atividade da GSH no grupo SED-H quando comparado ao CT-H ($p < 0,004$). Observamos que houve peroxidação lipídica (TBARS) no tecido ventricular no grupo SED-P ($p < 0,01$) quando comparado ao CT-P (tabela 8).

Tabela 8. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).

VE	CT-P	CT-H	SED-P	SED-H
SOD Total (nmol/min/mg)	15,31 ± 0,75	16,77 ± 1,65	11,27 ± 0,78 ^b	10,91 ± 0,51 ^b
Mn-SOD (nmol/min/mg)	3,62 ± 0,25	3,75 ± 0,37	1,52 ± 0,15 ^b	1,76 ± 0,18 ^b
CAT (nmol/min/mg ⁻¹)	2,97 ± 0,09	3,10 ± 0,08	2,96 ± 0,13	2,51 ± 0,08 ^{a, b}
GPx (nmol/min/mg)	65,57 ± 5,67	76,25 ± 6,44	72,14 ± 2,81	72,09 ± 2,81
GSH (nmol/g)	1.115 ± 38	1.064 ± 65	1.234 ± 42	1.385 ± 57 ^{a, b}
TBARS (μM)	13,02 ± 0,35	14,93 ± 0,74 ^a	18,51 ± 0,77 ^b	17,30 ± 2,23
SOD/GPx	0,25 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,01
SOD/CAT	5,17 ± 0,25	5,52 ± 0,51	4,01 ± 0,42 ^b	4,44 ± 0,26 ^b

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Superóxido Dismutase total (SOD Total); Superóxido Dismutase mitocondrial (Mn-SOD); Catalase (CAT); Glutathione peroxidase (GPx); Glutathione reduzida (GSH), Espécies reativas ao ácido Tiobarbitúrico (TBARS); relação SOD com a GPx (SOD/GPx) e relação SOD com a CAT (SOD/CAT). Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P) e sedentário dieta hiperlipídica (SED-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = CT-P x CT-H / SED-P x SED-H e **b** = CT-P x SED-P / CT-H x SED-H e representado diferença estatística ($p \leq 0,05$), Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney e ANOVA Two-Way quando apropriados.

6.3 Resultados da terceira fase do estudo, protocolo de TR por oito semanas associado com dieta hiperlipídica

6.3.1 Massa Corporal

O grupo TR-H apresentou uma evolução do Δ de massa corporal (figura 21) estatisticamente diferente logo na primeira semana ($p = 0,04$) e se manteve maior até o final do período experimental ($p < 0,005$). A evolução da massa corporal do grupo TR-H foi maior estatisticamente em relação ao grupo TR-P a partir da segunda semana ($p < 0,05$). O Δ de ganho de massa corporal final para o grupo TR-H foi de $\approx 19\%$ e para o TR-P $\approx 13\%$.

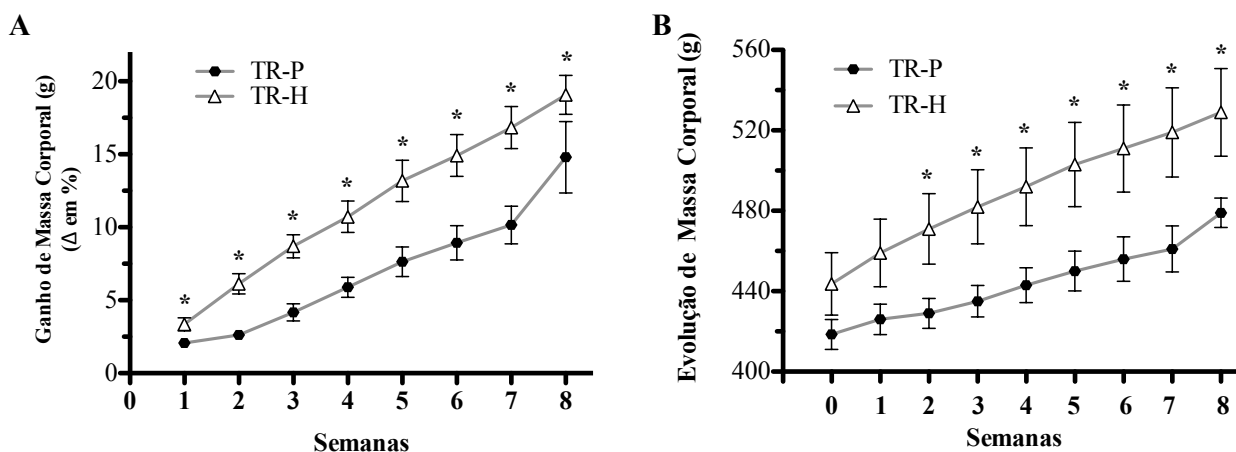


Figura 21. Efeito da dieta hiperlipídica no ganho de massa corporal. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). Gráfico **A** ganho de massa corporal apresentado em Δ em % ((massa corporal segunda semana – massa corporal inicial) \times 100)) para cada semana. Gráfico **B** evolução de massa corporal (g) em cada semana. * representa diferença estatística ($p < 0,05$) Teste t de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

6.3.2 Variação da relação massa do coração e VE/MC

Ao analisar o efeito do treino resistido e da dieta hiperlipídica, observamos que não houve interação entre treino e dieta, assim como não houve diferença estatística para tempo e dieta para as variáveis massa do CORAÇÃO, VE e massa relativa CORAÇÃO/MC.

Não houve interação entre treino e dieta para massa relativa VE/MC, porém houve diferença estatística para treino ($p < 0,007$) e dieta ($p < 0,000$).

O treinamento resistido é capaz modificar a massa relativa VE/MC, sendo maior estatisticamente para o grupo TR-P ($p < 0,003$) quando comparado ao SED-P. A dieta hiperlipídica também é capaz de modificar a massa relativa VE/MC, sendo menor estatisticamente para o grupo TR-H ($p < 0,002$) quando comparado ao TR-P.

Tabela 9. Valores relativos de Massa corporal/Coração, Massa Corporal/VE e Massa Coração/VE.

VE	SED-P	SED-H	TR-P	TR-H
CORAÇÃO (g)	1,94 ± 0,16	1,89 ± 0,10	1,87 ± 0,08	1,74 ± 0,83
VE (mg)	0,71 ± 0,02	0,76 ± 0,01	0,74 ± 0,01	0,76 ± 0,01
CORAÇÃO/MC (mg/g)	3,90 ± 0,24	3,33 ± 0,29	3,97 ± 0,15	3,44 ± 0,23
VE/MC (mg/g)	1,46 ± 0,01	1,37 ± 0,03 ^a	1,58 ± 0,03 ^c	1,42 ± 0,04 ^a

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Grupo sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). Ventrículo esquerdo (VE), massa corporal (MC). Valores relativos (coração/MC) (mg/g), (ventrículo esquerdo/MC) (mg/g). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = SED-P x SED-H / TR-P x TR-H e **c** = SED-P x TR-P / SED-H x TR-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), ANOVA Tow-Way.

6.3.4 Volume de carga de carregamento, Volume relativo de carga de carregamento e número de sessões semanais

Foi observado diferença para o volume de carga de carregamento em todo o período experimental de treinamento resistido (figura 22 A). Porém, quando se relativiza a carga de carregamento pela massa corporal dos animais (g/g), podemos perceber que o grupo TR-P foi capaz de carregar uma carga relativa significativamente maior ($p < 0,05$) a partir da segunda semana de treino (figura 22 B) quando comparado ao grupo TR-H. Ambos os grupos tiveram o mesmo volume de treinamento durante o período experimental.

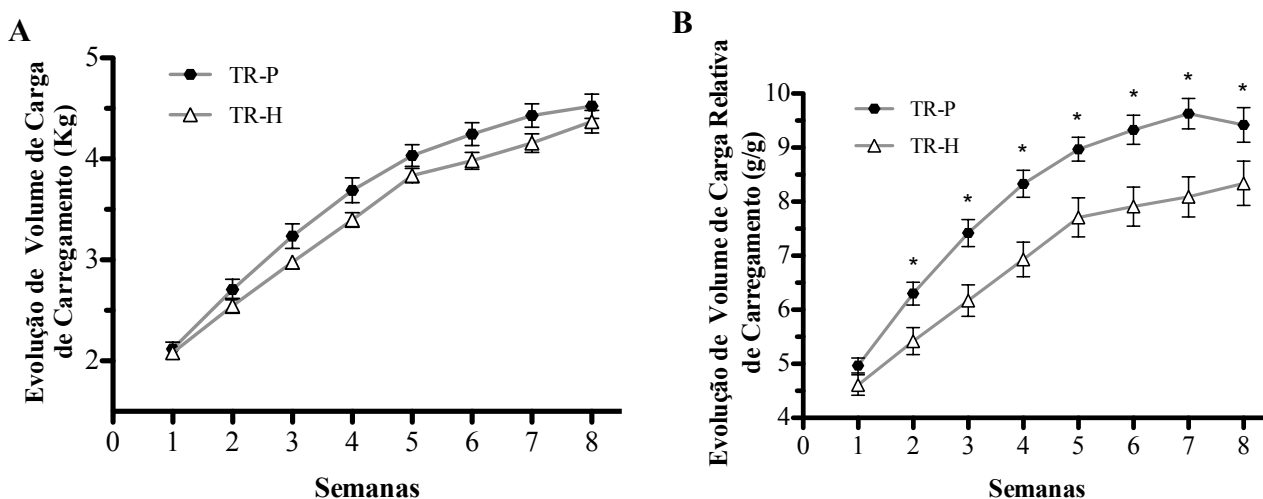


Figura 22. Volume de carga de carregamento. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Circulo cheio representa Grupo Treinamento resistido dieta padrão (TR-P) e triangulo vazio representa grupo Treinamento resistido dieta hiperlipídica (TR-H). Gráfico **A** Evolução de volume de carga de carregamento durante 8 semanas e **B** Evolução de volume relativo de carga de carregamento [(volume de carga de carregamento (g)/massa corporal (Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*)]. * Diferença estatística ($p < 0,05$) Teste *t* de Student ou Teste U de Mann-Whitney quando apropriados.

As sessões de exercício eram realizadas a cada 48 horas. Assim, em média, eram realizadas 2,38 sessões de exercício semanalmente (tabela 10). Acreditamos que, mesmo nas semanas que foram realizadas 3 sessões de exercício (semana 3, 6 e 8), essa sessão a mais não foi capaz de influenciar e/ou modificar as respostas fisiológicas analisadas neste estudo.

A tabela 10 mostra o número de sessões de exercício resistido semanais durante o período experimental de 8 semanas.

Tabela 10. Número de sessões de exercício por semana.

Grupos	Semanas								Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	
TR-P	2	2	3	2	2	3	2	3	2,38
TR-H									

Valores expressos como número de sessões de exercício realizados na semana. Grupo Treinamento resistido dieta padrão (TR-P) e Treinamento resistido dieta hiperlipídica (TR-H).

6.3.5 Atividade da enzima Citrato Sintase

Não houve diferença estatística entre os grupos SED-P e SED-H (teste *t*).

Não houve interação entre tempo e dieta. Porém, há diferença estatística na atividade enzimática da citrato sintase significativamente menor para os grupos que tiveram um tempo de vida maior (SED-P e SED-H) ($p < 0,001$), quando comparados aos seus respectivos grupos controle. Assim, tanto o grupo alimentado com dieta padrão e o alimentado com dieta hiperlipídica, que tiveram um período de vida maior, tiveram uma atividade enzimática menor (figura 23).

Houve interação entre treinamento e dieta hiperlipídica ($p < 0,02$). O grupo TR-H teve uma atividade enzimática maior estatisticamente quando comparado ao SED-H ($p < 0,004$) e TR-P ($p < 0,03$). Os dados sugerem que o treinamento resistido associado à dieta hiperlipídica aumenta a atividade enzimática da citrato sintase no VE (figura 23).

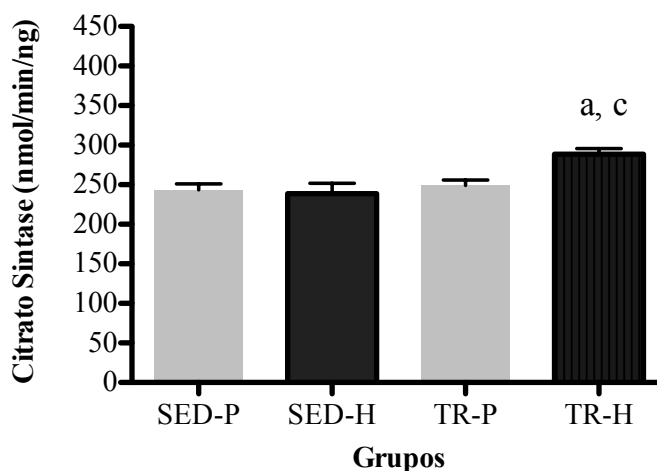


Figura 23. Efeito do TR e da dieta hiperlipídica sobre a atividade da citrato sintase no VE. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = SED-P x SED-H / TR-P x TR-H; e **c** = SED-P x TR-P / SED-H x TR-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), ANOVA Tow-Way.

6.3.6 Conteúdo Lipídico Totais

Não houve interação entre o treinamento resistido e dieta. Não foi encontrado diferença estatística entre o treinamento, porém houve diferença estatística para a dieta ($p < 0,02$). Assim, o conteúdo lipídico do VE do grupo TR-H foi estatisticamente maior quando comparado ao TR-P ($p < 0,04$), sugerindo que a dieta hiperlipídica promove um aumento do conteúdo lipídico no VE, mesmo os animais sendo submetido ao treinamento resistido (figura 24).

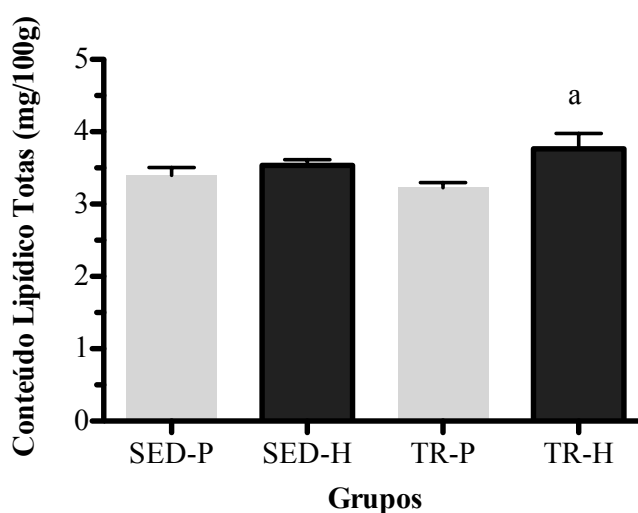


Figura 24. Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica sobre o conteúdo lipídico totais no VE (mg de tecido/100g massa corporal ((mg/g)). Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Grupo sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = SED-P x SED-H / TR-P x TR-H e **c** = SED-P x TR-P / SED-H x TR-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), ANOVA Tow-Way.

6.3.7 Atividade da MMP-2 por Zimografia

Analisando o efeito do TR, observamos que para a Pró MMP-2 não houve interação entre treino e dieta. O mesmo resultado foi observado para o efeito da dieta. Contudo, houve diferença estatística para o treinamento ($p < 0,001$). Para a Pró MMP-2, foi observado atividade significativamente maior no grupo TR-P ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo SED-P e atividade significativamente maior para grupo TR-H ($p < 0,03$) quando comparados ao grupo SED-H. Para a MMP-2 Intermediária, houve atividade significativamente maior no grupo TR-P ($p < 0,001$), quando comparado ao grupo SED-P, e diferença estatística maior para o grupo TR-H ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo SED-H (figura 18 B). Para a MMP-2 Ativa, foi observado diferença estatística com atividade menor no grupo TR-H ($p < 0,04$) quando comparado ao grupo SED-H (figura 25).

A atividade das isoformas da MMP-2 foi completamente inibida quando o gel foi incubado com tampão contendo 450 mM de EDTA concluindo que as bandas que apareceram na análise de Zimografia realmente era de atividade da MMP-2 e suas isoformas (dados não mostrados).

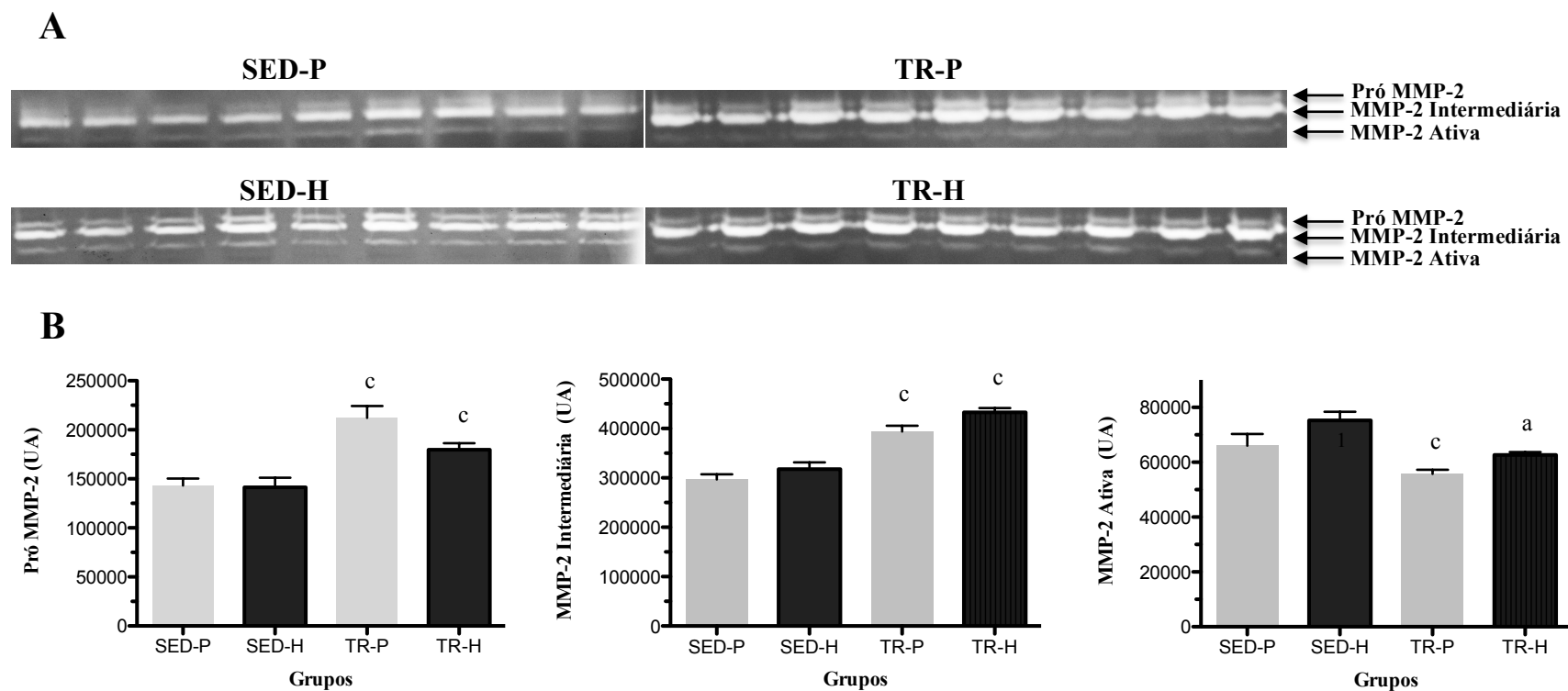


Figura 25. Efeito do treinamento resistido e da dieta hiperlipídica sobre a atividade da MMP-2. Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. **A** – Análise de Zimografia da MMP-2 nas suas isoformas Pró, Intermediária e Ativa no VE; **B** – Gráficos representativos dos valores de atividade das isoformas da MMP-2 em unidades arbitrárias (UA). sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). As letras sobrescritas representam a comparação entre os grupos, **a** = SED-P x SED-H / TR-P x TR-H e **c** = SED-P x TR-P / SED-H x TR-H, representado diferença estatística ($p < 0,05$), ANOVA Tow-Way.

6.3.8 Atividade das enzimas antioxidantes e Peroxidação Lipídica

Em nosso estudo, também foi analisado a interação entre o treinamento resistido e dieta hiperlipídica nos grupos experimentais SED e TR e se há diferença estatística entre os grupos para o treinamento resistido e para a dieta.

Para a SOD Total ($p < 0,001$), CAT ($p < 0,01$), para a relação SOD/GPx ($p < 0,004$) e SOD/CAT ($p < 0,001$) houve interação significativa entre treino resistido e dieta. Porém não houve interação para Mn-SOD (mitocondrial), GPx, GSH e para a produção de TBARS.

Em nosso estudo foi observado um efeito estatisticamente significativo para o treino para as enzimas SOD Total ($p < 0,001$), Mn-SOD (mitocondrial) ($p < 0,001$), CAT ($p < 0,001$) e para a relação SOD/GPx ($p < 0,001$) e SOD/CAT ($p < 0,001$).

Foi observado diferença estatística para o efeito da dieta para as enzimas SOD Total ($p < 0,000$), Mn-SOD (mitocondrial) ($p < 0,03$), para a produção de TBARS ($p < 0,05$) e para a relação SOD/GPx ($p < 0,001$) e SOD/CAT ($p < 0,001$).

Não foi observado diferença estatística para treino para a enzima GPx e para a produção de TBARS, além de não haver diferença em relação a dieta hiperlipídica para as enzimas CAT e GPx.

Em relação à atividade enzimática da SOD Total ($p < 0,001$), Mn-SOD ($p < 0,03$) e para a relação SOD/CAT ($p < 0,001$) houve uma atividade estatisticamente maior para o grupo TR-P quando comparado com o grupo SED-P ($p < 0,001$). Também foi observada atividade estatisticamente maior no grupo TR-H quando comparado ao SED-H ($p < 0,001$) e ao TR-P ($p < 0,05$) para a Mn-SOD.

O treinamento resistido foi capaz de diminuir a atividade enzimática das enzimas GSH ($p < 0,01$) para o grupo TR-H quando comparado ao SED-H. Já a dieta hiperlipídica promoveu uma significativa diminuição da atividade enzimática da SOD Total ($p < 0,001$), para a relação SOD/GPx ($p < 0,000$), SOD/CAT ($p < 0,001$) e para a produção do TBARS ($p < 0,01$) para o grupo TR-H quando comparado ao TR-P (tabela 11).

Tabela 11. Valores das análises bioquímicas do ventrículo esquerdo (VE).

VE	SED-P	SED-H	TR-P	TR-H
SOD Total (nmol/min/mg)	11,27 ± 0,78	10,91 ± 0,51	24,74 ± 1,23 ^c	14,17 ± 2,15 ^a
Mn-SOD (nmol/min/mg)	1,52 ± 0,15	1,76 ± 0,18	2,19 ± 0,18 ^c	2,81 ± 0,14 ^{a, c}
CAT (nmol/min/mg ⁻¹)	2,96 ± 0,13	2,51 ± 0,08 ^a	3,08 ± 0,16	3,45 ± 0,19
GPx (nmol/min/mg)	72,14 ± 2,81	72,09 ± 2,81	73,42 ± 7,49	73,85 ± 4,44
GSH (nmol/g)	1.234 ± 42	1.385 ± 57 ^a	1.100 ± 53	1.148 ± 46 ^c
TBARS (µM)	18,51 ± 0,77	17,30 ± 2,23	23,72 ± 2,31	15,65 ± 0,97 ^a
SOD/GPx	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,36 ± 0,04	0,16 ± 0,01 ^a
SOD/CAT	4,01 ± 0,42	4,44 ± 0,26	8,67 ± 0,72 ^c	3,70 ± 0,47 ^a

Todos os valores estão apresentados como média ± erro padrão da média. Superóxido Dismutase total (SOD Total); Superóxido Dismutase mitocondrial (Mn-SOD); Catalase (CAT); Glutaciona peroxidase (GPx); Glutaciona reduzida (GSH), Espécies reativas ao ácido Tiobarbitúrico (TBARS); relação SOD com a GPx (SOD/GPx) e relação SOD com a CAT (SOD/CAT). Grupo sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). As letras sobscritas representam a comparação entre os grupos, **a** = SED-P x SED-H / TR-P x TR-H e **c** = SED-P x TR-P / SED-H x TR-H, representado diferença estatística (p < 0,05), ANOVA Two-Way.

6.8 Correlações entre MMP-2 e enzimas antioxidantes

Ao analisar a correlação entre a atividade enzimática da SOD e CAT, observamos uma correlação moderada, negativa para o grupo TR-H, que foi estatisticamente significativa ($p = 0,04$). Os dados nos sugere que quando há um aumento da atividade enzimática da SOD, há uma diminuição da CAT no grupo TR-H (tabela 12).

Tabela 12. Correlação entre MMP-2 e enzimas antioxidantes do VE.

Grupos	MMP-2 INTER/GSH	MMP-2 ATIVA/GSH	SOD/GPx	SOD/CAT
CT-P	r_s -0,289	r -0,395	r -0,173	r 0,281
CT-H	r 0,277	r -0,552	r -0,615	r 0,278
SED-P	r 0,214	r 0,081	r -0,066	r -0,293
SED-H	r 0,100	r -0,299	r 0,344	r 0,013
TR-P	r 0,383	r -0,069	r 0,211	r -0,144
TR-H	r_s 0,385	r_s 0,377	r 0,353	r -0,685 *

Todos os valores estão apresentados como média \pm erro padrão da média. Metaloproteinase – 2 Ativa (MMP-2 ATIVA); Metaloproteinase – 2 intermediária (MMP-2 INTER) Superóxido Dismutase total (SOD Total); Superóxido Dismutase mitocondrial (Mn-SOD); Catalase (CAT); Glutaciona peroxidase (GPx); Glutaciona reduzida (GSH). Relação MMP-2 INTER com GSH (MMP-2 INTER/GSH); relação MMP-2 Ativa com GSH (MMP-2 Ativa/GSH); relação SOD com a GPx (SOD/GPx) e relação SOD com a CAT (SOD/CAT). Grupo controle dieta padrão (CT-P), grupo controle dieta hiperlipídica (CT-H), sedentário dieta padrão (SED-P), sedentário dieta hiperlipídica (SED-H), treinado dieta padrão (TR-P) e treinado dieta hiperlipídica (TR-H). r representa teste de correlação de *Pearson* e r_s representa teste de *Spearman*. * representa diferença estatística ($p < 0,05$).

7 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o efeito da dieta hiperlipídica na atividade enzimática de proteínas relacionadas ao remodelamento do VE em ratos Wistar em dois momentos de tempo de vida diferentes. Para investigar um possível efeito protetor que pudesse amenizar ou mesmo reverter esses efeitos, utilizamos como estratégia não farmacológica o exercício resistido de alta intensidade (Hornberger e Farrar, 2004). Assim, de acordo com o desenho experimental deste estudo, a discussão foi dividida em três partes.

A obesidade é uma doença multifatorial, caracterizada pelo aumento da massa do tecido adiposo decorrente, muitas vezes, do balanço energético positivo. Esse balanço energético positivo pode ser devido a uma alimentação rica em gordura associada ao sedentarismo, dentre outros fatores, causando aumento da massa do tecido adiposo, consequentemente levando o indivíduo à obesidade. Evidências científicas demonstram que o consumo elevado de dietas ricas em gordura estão associadas a um aumento significativo da pressão arterial, da adiposidade, do acúmulo de gordura ectópica, aumento do perfil lipídico e perfil inflamatório, além de alterações cardíacas em ratos (Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Speretta, Rosante *et al.*, 2012; Cao, 2012; Duarte, Sene-Fiorese *et al.*, 2012) e humanos (Campbell, Gross *et al.*, 2010). As alterações cardíacas na sua estrutura e função estão associadas a atividade de enzimas proteolíticas, como as MMPs e ao estresse oxidativo (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009).

Na primeira fase do nosso estudo, o período de três semanas de indução à obesidade foi capaz de promover a peroxidação lipídica no VE, maior atividade da MMP-2 Ativa, além de aumentar a massa corporal e massa do VE, diminuir a atividade da citrato sintase e da atividade das isoformas Pró e Intermediária da MMP-2.

Na literatura, são encontrados diversos estudos que utilizaram diferentes dietas ricas em gordura com o intuito de indução à obesidade em animais (Vincent, 2001; Estadella, Oyama *et al.*, 2004; Bradley, Jeon *et al.*, 2008; Zambon, Duarte *et al.*, 2009). Nosso grupo de estudos demonstrou em estudos anteriores que a dieta hiperlipídica é uma boa estratégia para a indução da obesidade em ratos, induzindo ao ganho de massa corporal e promovendo os efeitos deletérios relacionados à obesidade, aumento de gordura no fígado (esteatose hepática não alcoólica) e do perfil lipídico (Duarte, Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Sene-Fiorese, Duarte *et al.*, 2008; Duarte, Sene-Fiorese *et al.*, 2012), aumento da área de adipócitos além de promover um estado metabólico pró-inflamatório crônico (Speretta *et al.*, 2012). Estudo prévio que utilizou a mesma dieta por três semanas (Estadella, Oyama *et al.*, 2004) mostrou que esse

período foi suficiente para promover mudanças no perfil lipídico, aumento de massa do tecido adiposo, no desenvolvimento de dislipidemias e acúmulo de gordura no fígado. Outro trabalho mostrou que esse mesmo período pode causar aumento da oxidação de ácidos graxos mitocondrial, além de causar prejuízos na eficiência cardíaca em ratos (Cole, Murray *et al.*, 2011).

Estudo realizado por Smith *et al.* (2006) mostrou que ratos jovens alimentados com dieta hiperlipídica mostraram aumento significativo na massa corporal e cardíaca, além de aumento da adiposidade visceral e da peroxidação lipídica analisada no plasma, além de aumento da pressão arterial. Contudo, não foi observado aumento da concentração de renina e aldosterona plasmática, indicando que esses hormônios não influenciaram o aumento da pressão arterial. Os resultados encontrados em nosso estudo corroboram ao estudo acima citado nas variáveis massa corporal e peroxidação lipídica.

Sobre a massa ventricular, um estudo de coorte (De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012) demonstrou que um aumento da massa do VE está associada com a obesidade com uma deficiência de massa livre de gordura. O estudo de Framingham (1999) sobre massa ventricular demonstrou que a hipertrofia ventricular está associada à obesidade, sendo ela um prenúncio de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (Levy, Garrison *et al.*, 1990). Indivíduos obesos apresentam um aumento do volume intravascular e aumento do débito cardíaco. Esse aumento é devido a necessidade de suprir as demandas metabólicas relacionadas ao aumento da massa corporal, principalmente ao tecido adiposo e a resistência periférica total, além de um aumento da atividade simpática (Blake, Devereux *et al.*, 1990; Reisin e Jack, 2009). Resultados encontrados em nosso estudo corroboram o discutido acima, onde a massa do VE no grupo CT-H foi maior. Contudo, a massa relativa do VE foi menor significativamente no grupo CT-H, em relação ao controle. Esse resultado é devido a maior massa corporal dos animais deste grupo. Esse dado pode subestimar o impacto da obesidade na geometria do VE. Mesmo assim a massa relativa do VE é um índice utilizado como preditor de riscos cardiovasculares relacionados a hipertrofia ventricular em indivíduos com sobrepeso e obesidade (Chirinos, Segers *et al.*, 2010).

Um estudo prévio (Cole, Murray *et al.*, 2011) utilizando dieta hiperlipídica por três semanas em ratos Wistar mostrou que a atividade da citrato sintase não modificou. Porém, os mesmos animais apresentaram um consumo de oxigênio (*in vivo*) 19% maior, com uma eficiência cardíaca 21% menor em consequência do aumento do consumo de oxigênio, comparado ao grupo alimentado com dieta padrão. Por outro lado, nossos resultados mostraram uma atividade menor da citrato sintase em ratos alimentados com deita

hiperlipídica no mesmo período de tempo. Especulamos que a menor atividade da referida enzima deva ser devido à massa ventricular maior com um maior número de mitocôndrias em animais alimentados com dieta hiperlipídica.

Algumas desordens cardíacas, além de estarem relacionadas com a atividade mitocondrial, também estão relacionadas com a obesidade e com o estresse oxidativo. Essas desordens podem levar a aterosclerose, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, cardiomiopatia e hipertrofia do ventrículo esquerdo (Schulz, 2007; Wong e Marwick, 2007). Alterações na degradação de constituintes da MEC, pela ação da MMP-2, estão associadas a essas doenças, o qual a degradação desses constituintes da MEC podem levar dias a semanas, assim como no interior dos cardiomiócitos, que podem levar de segundos a minutos. Estas alterações estão associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares como aterosclerose, isquemias e parada cardíaca (Schulz, 2007). Nesse sentido, resultados anteriores da literatura demonstram que as alterações na degradação da MEC e em proteínas contráteis dos cardiomiócitos pela MMP-2, estão correlacionadas com o desenvolvimento de desordens cardiovasculares, incluindo a aterosclerose, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, cardiomiopatia e hipertrofia ventricular esquerda. Todas essas alterações cardiovasculares relacionadas com a obesidade (Chow, Cena *et al.*, 2007; Schulz, 2007; Wong e Marwick, 2007).

Em nosso estudo observamos que a dieta hiperlipídica foi capaz de aumentar a atividade da MMP-2 Ativa no VE. Essa atividade aumentada pode ter ação proteolítica de constituintes da MEC como colágeno I e IV, além proteínas dos sarcômeros do VE como a Troponina I, miosina de cabeça leve 1 pela ação da Pró MMP-2 (figura 1) (Chow, Cena *et al.*, 2007). Contudo, a menor atividade da Pró MMP-2 e Intermediária em nosso estudo pode estar relacionado à atividade da MMP-2 Ativa, que foi maior no grupo CT-H.

Relacionado à atividade proteolítica da MMP-2 no tecido cardíaco, o estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de EROs ou ERNs. (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Recentes evidências indicam que a obesidade está associada com aumento da peroxidação lipídica no miocárdio, com maior suscetibilidade ao dano oxidativo. Este processo se dá pela degradação dos ácidos graxos poliinsaturados encontrados nas membranas celulares e lipoproteínas. A peroxidação lipídica é utilizada em estudos científicos como indicador do estresse oxidativo celular tendo relação direta com doenças cardíacas (Vincent, 2001; Vincent, Innes *et al.*, 2007).

Em nosso estudo foi observado que, as três semanas de indução à obesidade não modificaram a atividade enzimática e não enzimática das antioxidantes analisadas.

Porém, observamos que a dieta hiperlipídica em apenas três semanas promoveu a peroxidação lipídica no VE (tabela 5) observado pelo aumento do TBARS no grupo CT-H. Esse resultado vai ao encontro de dados prévios (Bhandari, Kumar *et al.*, 2011) o qual ratos Wistar alimentados com dieta hiperlipídica por 4 semanas apresentaram níveis elevados de TBARS comparados aos seus controles. Assim, os dados do nosso trabalho sugerem que 3 semanas é um período curto para que as enzimas antioxidantes possam se adaptar às mudanças no VE, em ratos alimentados com dieta rica em gordura, já que não houve mudança nos níveis das enzimas antioxidantes e GSH. Também especulamos que possa ter ocorrido, entre a primeira e segunda semana, um aumento da produção de EROs e ERNs, promovendo peroxidação lipídica já no início dessa fase, além de promover aumento da atividade das enzimas antioxidantes e da GSH. Ao final da terceira semana possivelmente o organismo pode ter respondido à produção das EROs e ERNs, combatendo esse aumento por meio das enzimas antioxidantes e GSH. Assim, nossas análises pode ter detectado apenas um ligeiro dano celular (TBARS) nas células miocárdicas, sem modificação significativas das antioxidantes analisadas. Então, ao final da terceira semana, o tecido cardíaco possivelmente estava praticamente adaptado ao estímulo de obesidade induzida pela dieta hiperlipídica.

Com o aumento da peroxidação lipídica, a MMP-2 poderia estar atuando no remodelamento do VE, tanto na sua forma Pró (com o seu pró-domínio, ativada pelo peróxido nítrico e GSH) quanto na sua forma enzimática Ativa (Schulz, 2007; Kandasamy, Chow *et al.*, 2010). Sendo assim, nossa primeira hipótese foi confirmada. O período de indução à obesidade foi capaz de promover o estresse oxidativo e aumento da atividade da MMP-2 Ativa no VE.

Na segunda fase do nosso estudo, analisamos os efeitos da dieta hiperlipídica por um tempo prolongado, alimentando os animais com dieta hiperlipídica por mais oito semanas. Analisando as variáveis somente dos grupos que tiveram um tempo de vida maior (SED-P e SED-H), observamos que os animais alimentados com dieta hiperlipídica (SED-H) apresentaram ganho de massa corporal maior a partir da quarta semana. O grupo SED-P praticamente estabilizou o ganho de massa corporal a partir da quinta semana. Assim, a dieta hiperlipídica também foi capaz de induzir continuamente o ganho de massa corporal no grupo SED-H, como no CT-H. Esse aumento se deve ao maior tempo de consumo e ao maior conteúdo calórico da dieta hiperlipídica (Speretta *et al.*, 2012), ingerido pelo grupo SED-H (dados não mostrados). Contudo, o consumo da dieta hiperlipídica por mais oito semanas, em animais com o mesmo período de vida, promoveu alterações significativas somente na massa relativa do VE/MC, na atividade enzimática da CAT, da GSH e da relação SOD/CAT.

Ao observar as repostas das variáveis analisadas entre os grupos CT e SED, observamos que ratos alimentados com dieta hiperlipídica por mais oito semanas (SED-H) apresentaram ação proteolítica da MMP-2 Ativa menor no VE quando comparado ao CT-H. Porém, não houve modificação na atividade em nenhuma das isoformas da MMP-2 quando comparado ao SED-P. Já a massa do VE foi maior em ambos os grupos com o tempo de vida maior (SED-P e SED-H), sem contudo, diferirem entre si. Também foi observado um maior conteúdo lipídico nos animais alimentados com dieta hiperlipídica por mais oito semanas (SED-H) comparado ao seu controle (CT-H). Nos grupos SED-P e SED-H, foi observado supressão significativa do sistema antioxidante comparado aos seus respectivos controles. Mesmo com essa supressão não foi observado peroxidação lipídica nesses grupos. Interessantemente, houve uma interação entre tempo e dieta para o grupo SED-H, sendo observado uma atividade maior da GSH. Esse aumento pode indicar uma ação antioxidante diretamente onde o peróxido de hidrogênio é produzido, ou seja, na mitocôndria (David, 2006) provavelmente devido ao aumento da massa do VE e do conteúdo lipídico. Esse aumento da massa ventricular pode ser um indicativo de hipertrofia patológica. Essa hipertrofia pode ter promovido um aumento de sarcômeros em série e, conseqüentemente, de mitocôndrias que compõem o cardiomiócitos. Tendo com isso, um conteúdo maior de GSH no tecido do VE. Provavelmente, de forma geral, isso explicaria uma atividade maior da GSH (Filho, 2012; De Simone, Pasanisi *et al.*, 2012).

Esses resultados provavelmente podem ser explicados por adaptações não somente do sistema cardiovascular, mas também do metabolismo de modo geral. Estudos prévios realizados com ratos Wistar jovens e adultos (Qi e Rouleau, 1997; Bal, De Vries *et al.*, 2005) mostraram que a menor função sistólica intrínseca e que a resposta contrátil cardíaca são dependentes da idade, sendo menor em ratos adultos. Outro trabalho mostrou que ratos jovens tem uma frequência cardíaca basal maior que ratos adultos, e que o metabolismo basal em ratos adultos/senescentes é cerca de 20 a 30% menor que em animais jovens (Kiriazis e Gibbs, 2000). Assim, um metabolismo basal menor, com um gasto de energia diminuído, irá necessitar de uma quantidade menor de energia para manter as funções celulares normais. Um estudo realizado por Anversa *et al.* (2006) mostrou que em miócitos cardíacos de ratos adultos, comparados a ratos jovens, há uma perda de miócitos que são substituídos por tecido fibroso e que o miócitos restantes se tornam hipertrofiados. Assim, há uma necessidade diminuta de ATP (energia) para se manter a homeostase iônica em cardiomiócitos dilatados (hipertrofiados). Como há uma área de superfície inferior à proporção em volume, esses cardiomiócitos necessitam de menos bombas Na^+/K^+ -ATPase

por unidade de superfície, o que resultaria um custo energético reduzido, com um trabalho cardíaco menor. Corroborando ao discutido acima, foi observado uma atividade da citrato sintase menor nos grupos SED, que tiveram um tempo de vida maior.

Essas adaptações no sistema energético dos cardiomiócitos podem produzir menores quantidades de EROS, diminuindo com isso a atividade enzimática do sistema antioxidante. O que talvez possa explicar a inibição do sistema enzimático antioxidante no VE dos animais dos grupos SED. Contudo, De Simone et al. (2012) mostraram em seu trabalho que o aumento da massa do VE está relacionada à obesidade. O estudo de Framingham (Levy, Garrison *et al.*, 1990) mostrou que a obesidade pode levar ao aumento da massa ventricular. Na obesidade pode haver um aumento do volume intravascular e aumento do débito cardíaco. Com isso há uma necessidade de suprir a demanda energética aumentada relacionada ao aumento da massa corporal, principalmente ao tecido adiposo e a resistência periférica total, além de um aumento da atividade simpática (Blake, Devereux *et al.*, 1990; Reisin e Jack, 2009). A hipertrofia causada pela substituição dos miócitos por tecido fibroso, onde os miócitos restantes se tornam hipertrofiados (Anversa, Hiler *et al.*, 1986), pode estar relacionada à maior atividade da MMP-2 (Chow, Cena *et al.*, 2007; Schulz, 2007; Hadler-Olsen, Fadnes *et al.*, 2011). Os nossos resultados mostraram que a atividade da MMP-2 Ativa no grupo CT-H foi maior, corroborando a literatura. Já para a MMP-2 Ativa do grupo SED-H, foi observado em nosso estudo uma menor atividade comparado ao CT-H. Porém, a massa do VE do grupo SED-H foi significativamente maior ao do CT-H, sugerindo que o VE dos animais do grupo SED-H tenha passado pelo remodelamento promovido pela obesidade e pelo tempo de vida maior. O que poderia explicar uma atividade proteolítica menor da enzima MMP-2 e maior massa ventricular.

Interessantemente, observamos que no grupo com o tempo de vida maior alimentado com dieta padrão (SED-P) houve peroxidação lipídica, comparado ao grupo com menor tempo de vida alimentado com a mesma dieta (CT-P). Um estudo prévio (Sivonova, Tatarkova *et al.*, 2007) demonstrou que com o envelhecimento há uma diminuição das defesas antioxidantes e aumento da peroxidação lipídica, no plasma e miocárdio, de ratos Wistar. Nossos resultados vão de encontro com o trabalho citado. Assim, o consumo de dieta hiperlipídica por mais oito semanas foi capaz de promover peroxidação lipídica, aumentar a massa e o conteúdo lipídico do VE, diminuir o trabalho cardíaco, sugerido pela menor atividade da citrato sintase. Além de promover uma possível hipertrofia patológica do VE, pela atividade da MMP-2 e de suprimir as defesas enzimáticas antioxidantes no VE. Assim, nossa hipótese foi parcialmente confirmada, com o tempo de vida prolongado sendo capaz de

induzir o aumento do estresse oxidativo, observado pela peroxidação lipídica somente no grupo alimentado com dieta padrão (SED-P). Contudo, esse período de vida maior e a dieta hiperlipídica não foi capaz de promover a peroxidação lipídica e aumento da atividade da MMP-2 Ativa no VE (SED-H). Assim, nossa hipótese sobre o tempo prolongado e consumo de dieta hiperlipídica em induzir ao aumento do estresse oxidativo, assim como uma maior atividade da MMP-2 Ativa foi rejeitada.

Na terceira fase de nosso estudo, analisamos os efeitos do TR de alta intensidade por oito semanas, em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, sobre remodelamento do VE. Os animais do grupo TR-H iniciaram o período de oito semanas de TR com um quadro de obesidade já instalado. Podemos fazer tal afirmação devido a análise dos dados da primeira fase do nosso estudo, discutido anteriormente.

Várias alternativas vem sendo estudadas no combate à obesidade e as suas comorbidades. Uma dessas alternativas é o exercício físico (Strasser, Arvandi *et al.*, 2012; World Health Organization, 2013; Kopelman, 2007; Ahmad, Chasman *et al.*, 2010).

Em nosso estudo observamos que o TR foi capaz de atenuar o ganho de massa corporal nos animais alimentados com dieta hiperlipídica comparado a ambos os grupos SED. Mesmo assim os animais do grupo TR-H continuaram a aumentar significativamente a massa corporal em comparação ao grupo alimentado com dieta padrão (TR-P) por todo o período experimental.

Nosso estudo demonstrou que o TR induz uma menor atividade da Pró MMP-2 e MMP-2 Ativa no VE de ratos obesos (TR-H) comparado ao SED-H. Essa constatação aponta para uma resposta benéfica, com um efeito de atenuar os efeitos deletérios promovidos pela obesidade, com uma possível melhora da função cardíaca, devido ao TR sobre os efeitos deletérios da obesidade. Este estudo demonstrou que o TR foi capaz de promover uma melhora do sistema antioxidante no VE de ratos obesos. Observamos também um menor ganho de massa corporal em ambos os grupos TR-H e TR-P comparado aos seus respectivos grupos controle.

Foi observado uma maior atividade da Pró MMP-2, MMP-2 Intermediária em animais eutróficos submetidos ao TR e, interessante, peroxidação lipídica somente nesses animais (TR-P). Mesmo sendo observado aumento da SOD Total e Mn-SOD, comparado ao SED-P, não foi observado mudanças positivas na defesa antioxidante no grupo TR-P. Provavelmente devido ao maior volume de carga relativa de carregamento. Esse dado nos sugere um maior esforço realizado pelos animais do grupo TR-P. A massa relativa do VE/MC do grupo TR-H foi menor devido à maior massa corporal do grupo TR-P. O mesmo

resultado encontrado para todos os animais alimentados com dieta hiperlipídica deste estudo, discutido anteriormente.

Analisando o estímulo ao qual foram submetidos os animais de ambos os grupos (TR-P e TR-H) observamos que o volume de carga de carregamento foi igual (figura 14 A). Ambos os grupos receberam o mesmo estímulo. Porém, quando corrigimos esses valores pela massa corporal de cada animal, então pudemos analisar o trabalho realizado pelos animais de cada grupo (figura 14 B). Para tal, foi relativizado o volume de carga de carregamento pela massa corporal dos animais (g/g). Observamos com isso que o grupo TR-H teve um volume de carga relativa de carregamento menor comparado ao grupo TR-P. Os valores menores para o volume de carga relativa de carregamento é, provavelmente, devido a condição de inflamação crônica de baixo grau, o qual é observado em indivíduos obesos (Gregor e Hotamisligil, 2011). Esse quadro inflamatório pode influenciar na perda de massa magra em indivíduos com obesidade (Benton, Whyte *et al.*, 2011). O treinamento físico é considerado uma boa ferramenta na manutenção do peso corporal, além de ser eficiente para diminuir o grau de inflamação de baixo grau sistêmica em animais (Bradley, Jeon *et al.*, 2008) e em humanos (Pedersen, 2006; Pedersen e Febbraio, 2012). Como estratégia para minimizar os efeitos deletérios da obesidade, o TR é atualmente uma das estratégias mais eficazes no combate à perda de massa magra, estimulando a hipertrofia e o ganho de força. O TR promove uma diminuição da gordura abdominal e da massa corporal. Também tem se mostrado uma ótima ferramenta na melhora da sensibilidade à insulina e na diminuição nos valores de pressão arterial (Johnston, De Lisio *et al.*, 2008; Sundell, 2011). O discutido acima pode elucidar a menor carga relativa de carregamento observado nos animais alimentados com dieta hiperlipídica (TR-H).

O aumento do conteúdo lipídico totais no VE do grupo TR-H (figura 16), pode ser explicado devido aos miócitos do VE terem atingido a sua capacidade máxima para a oxidação de palmitato e que os ácidos graxos livres excedentes foram armazenados no VE (Unger e Orci, 2001). Nossos resultados corroboram a encontrados na literatura que utilizaram dieta rica em gordura onde foi observado uma concentração maior de lipídio no coração de ratos Sprague Dawley (Akki e Seymour, 2009). Contudo, em outro estudo, foi observado uma melhora da oxidação do oleato com uma consequente supressão de oxidação de glicose no tecido cardíaco em ratos Wistar alimentados com uma dieta rica em de gordura (Wilson, Tran *et al.*, 2007). Esta diferença de resultados provavelmente se deve a diferentes animais e protocolos utilizados nesses estudos. Estes resultados, segundo Wilson *et al.* (2007), sugerem uma ativação inadequada das proteínas desacopladoras (UCPs). O que pode

contribuir para o desenvolvimento de disfunção cardíaca em animais alimentados com dieta rica em gordura.

Essa eficiência diminuída pode ser devido ao aumento dos níveis mitocondrial da proteína desacopladora 3 (UCP3). Os níveis elevado da UCP3 estão associados com a diminuição da fosforilação de desacoplamento/oxidação de mitocondriais interfibrilar (Cole, Murray *et al.*, 2011). O que pode explicar o elevado consumo de oxigênio em cardiomiócitos de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Nesse sentido, os dados do nosso estudo sugerem que o TR não foi capaz em reverter os efeitos deletérios associados à obesidade no que diz respeito ao acúmulo de lipídios totais no VE. Toda via, foi observado que o conteúdo de lipídios totais foi menor no VE do grupo alimentado com deita normal (TR-P). Além disso, a maior atividade da citrato sintase no grupo TR-H vai de encontro com o discutido acima. Nossos resultados difere do encontrado em trabalho realizado por Cole *et al.*, (2011) no que se refere a atividade da citrato sintase, que observaram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica apresentam consumo de oxigênio (in vivo) 19% maior, com uma eficiência cardíaca 21% menor em consequência do aumento do consumo de oxigênio, não aumentando a atividade da citrato sintase.

Nossos resultados, porém, mostram uma interação entre TR e dieta hiperlipídica. Especulamos que a maior atividade da citrato sintase deve ser devido ao acúmulo de lipídio no VE e ao aumento da demanda metabólica imposto pelo TR. Já a menor atividade da citrato sintase no VE dos animais do grupo TR-P se deve ao efeito do exercício. Esse efeito é decorrente da melhora da eficiência cardíaca induzida pelo exercício na redução da pressão arterial (Pescatello, Franklin *et al.*, 2004; Moraes, Bacurau *et al.*, 2012; Westcott, 2012). É proposto que os mecanismos envolvidos nos efeitos hipotensores do exercício incluem adaptações neuro-humorais, vasculares e estrutural. É postulado que as reduções de catecolaminas e da resistência periférica total, melhora da sensibilidade à insulina e alterações de vasodilatadores e vasoconstritores que estão envolvidos nos efeitos anti-hipertensivos promovidos pelo exercício (Pescatello, Franklin *et al.*, 2004; Cornelissen, Fagard *et al.*, 2011).

Por outro lado, nosso estudo demonstrou que o TR atenua o ganho de massa corporal, assim como a atividade da MMP-2 Ativa em ratos eutróficos e obesos. Estas alterações podem ser atribuídas a maior massa muscular e diminuição da massa gorda e percentual de gordura (Pescatello, Franklin *et al.*, 2004; Benton, Whyte *et al.*, 2011; Sundell, 2011; Westcott, 2012). Estes resultados sugerem que o TR pode ter induzido uma mobilização de ácidos graxos livres e sua oxidação, o que representa um melhor perfil de

adiposidade e menor níveis de citocinas pró-inflamatórias. Em estudo realizado por nosso grupo de estudos (Speretta *et al.*, 2012) demonstrou que, em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, o TR foi eficaz em diminuir a área de adipócitos, a adiposidade e em melhorar o perfil lipídico. Também foi observado nesse estudo uma diminuição da expressão gênica de marcadores pró-inflamatórios associados à obesidade como o TNF- α .

Há vários pesquisadores que vem estudando o efeito do TR em diferentes tecidos como tendão (Marqueti, Prestes, Paschoal *et al.*, 2008; Pereira, Prestes *et al.*, 2010; Yu, Pang *et al.*, 2013), músculo esquelético (Marqueti, Prestes, Stotzer *et al.*, 2008; Yeghiazaryan, Zybura-Broda *et al.*, 2012) e ossos (Nyman, Lynch *et al.*, 2011; Shiguemoto, Prestes *et al.*, 2012). Ainda há trabalhos que analisaram o efeito do exercício de alta intensidade no VE (Verzola, Mesquita *et al.*, 2006; Marqueti, Micocci *et al.*, 2012). Mesmo assim, os efeitos do TR no VE em animais obesos permanecem obscuros.

Estudo anterior demonstrou que o treinamento de salto de alta intensidade na água induziu uma maior atividade da MMP-2 Ativa e teor de proteína no VE. Da mesma forma, o presente estudo demonstrou que o TR aumentou a atividade da MMP-2 Ativa no grupo TR-H, comparado ao TR-P (figura 18). Estes resultados são importantes para manter o turnover celular e função cardíaca normal, podendo ser considerado com um mecanismo de adaptação fisiológica induzida pelo exercício (Marqueti, Micocci *et al.*, 2012). Estudo prévio discute que o remodelamento do tecido cardíaco é um processo dinâmico e normal. Esse processo envolve a síntese e degradação do colágeno o qual a MMP-2 possui um papel importante (Verzola, Mesquita *et al.*, 2006). A atividade dessa enzima é necessária para o turnover celular (Marqueti, Micocci *et al.*, 2012) e crescimento do tecido, a fim de apoiar as crescentes necessidades metabólicas durante o exercício (Pescatello, Franklin *et al.*, 2004) e obesidade (Blake, Devereux *et al.*, 1990; Reisin e Jack, 2009).

É postulado que a modificação pós-traducional da MMP-2 de 72 kDa (Pró MMP-2) pelo estresse oxidativo é um evento chave que conduz à sua ativação intracelular, observada em várias condições patológicas, inclusive na obesidade (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009). Um estudo prévio investigou como o ONOO⁻ interage com o zimogênio da Pró MMP-2 na ausência ou na presença de GSH. Viappiani *et al.* (2009) citam que a GSH atenua a ação do ONOO⁻ sobre a ativação da Pró MMP-2, mostrando a ação da GSH em reduzir a concentração de ONOO⁻ do organismo. Por outro lado, a GSH poderia inibir a ativação da MMP-2, ou ativar essa proteína de forma reversível, efeito contrário ao do ONOO⁻. Nesse estudo, os autores observaram que o zimogênio Pró MMP-2, de 72kDa, pode ser ativado pelo ONOO⁻, um sutil equilíbrio entre os níveis de ONOO⁻ e moléculas com

capacidade redox como a GSH intracelular pode ocorrer. Nesse mesmo trabalho, os autores observaram que o ONOO⁻ aumentou a atividade da Pró MMP-2 em uma concentração de 0,31 mM ONOO⁻. Contudo, altas concentrações do ONOO⁻ (10 mM) promoveram diminuição da atividade da enzima. A ativação da Pró MMP-2 pelo ONOO⁻ envolve a modificação do resíduo Cys, conservando o domínio auto-inibitório da enzima. Isso mantém a enzima na sua forma latente de 72kDa. Quantidades equimolares de GSH atenuam a ação do ONOO⁻ na ativação da MMP-2 em sua forma latente de 72 kDa. (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009). A interação entre treino e dieta hiperlipídica em nosso estudo foi capaz de aumentar a atividade da Pró MMP-2 no grupo TR-H comparado ao SED-H e diminuir a GSH no grupo TR-H comparado ao SED-H. Resultado este observado pela maior atividade da MMP-2, o que nos mostra uma maior quantidade dessa proteína em sua forma latente de 72 kDa.

A Pró MMP-2 possui a ação de degradar proteínas contrateis das células cardíacas como a troponina I (Wang, Schulze *et al.*, 2002), cadeia leve de miosina 1 (Sawicki, Leon *et al.*, 2005) e alfa-actina (Sung, Schulz *et al.*, 2007). A degradação dessas proteínas que constituem os sarcômeros dos miócitos cardíacos estão relacionadas com doenças cardíacas (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010).

Lesões causadas por citocinas pró-inflamatórias no coração estão associadas com o estresse oxidativo. Essas lesões são causadas pelo ONOO⁻ por meio da ativação da Pro MMP-2, promovendo degradação de proteínas contráteis nos cardiomiócitos. Tal efeito leva a uma perda de função contrátil do tecido cardíaco (Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009).

Algumas revisões sobre MMP-2 mostram que essa enzima, ativada pelo estresse oxidativo, além de ação proteolítica, também está associada à apoptose celular pela estimulação de receptores β -adrenérgicos. A MMP-2 atua juntamente com o TNF- α na indução da apoptose das células cardíacas. Há evidências sobre o seu papel em vias apoptóticas de células do miocárdio e de outras funções celulares, tanto na saúde quanto na doença (Kandasamy, Chow *et al.*, 2010). Tanto a degradação de proteínas contráteis quanto a sinalização à apoptose celular pela MMP-2 estão relacionadas ao estresse oxidativo nos cardiomiócitos (Chow, Cena *et al.*, 2007; Viappiani, Nicolescu *et al.*, 2009; Kandasamy, Chow *et al.*, 2010). O exercício físico aumenta a utilização de O₂. Esse aumento também eleva a formação de radicais livres em vários tecidos do corpo. O exercício físico regular tem se mostrado eficiente em melhorar as funções cardiovasculares em pacientes com insuficiência cardíaca crônica e outras doenças cardiovasculares. O tecido cardíaco é exposto continuamente à reativos de oxigênio e de nitrogênio (Husain e Hazelrigg, 2002).

Contudo, trabalhos anteriores (Williams, Haskell *et al.*, 2007; Ahmadiasl, Najafipour *et al.*, 2012) mostram a eficácia do TR em aumentar as defesas antioxidantes cardíacas. Comparando o TR ao treinamento aeróbio, foi observado que estudos com ratos Fisher submetidos a treinamento de esteira por oito semanas mostraram maior atividade na SOD Total, Mn-SOD, CAT e GSH no grupo treinado comparado ao sedentário indicando um efeito cardioprotetor do exercício contra o estresse oxidativo (Husain e Hazelrigg, 2002). Isso mostra a eficácia do exercício físico em otimizar as defesas antioxidantes, mesmo em protocolos diferentes.

Os nossos resultados mostram que o TR aumenta significativamente a atividade enzimática da SOD Total e Mn-SOD e da GSH, indicando um efeito benéfico contra lesões causadas pelas EROS no tecido cardíaco (tabela 5). Entretanto, foi observado um elevado nível do TBARS no grupo TR-P indicando peroxidação lipídica no VE. O maior trabalho realizado por esse grupo, observado pela maior carga relativa de carregamento (figura 14), pode explicar esse resultado. Já os baixos níveis de TBARS, observado no grupo TR-H, indica uma adaptação positiva do organismo contra o estresse oxidativo, levando em consideração o trabalho menor realizado por esse grupo. Chegamos a essa conclusão devido ao aumento da atividade enzimática da CuZn-SOD, Mn-SOD e GSH. Para a relação, SOD/GPx no grupo TR-H foi menor comparado ao TR-P. Um aumento da relação SOD/CAT no grupo TR-H é devido a um aumento compensatório da CAT devido ao aumento da SOD.

A CAT é uma enzima de defesa muito importante no organismo, atuando no processo de diminuição dos níveis do peróxido de hidrogênio no organismo (Droge, 2002). Contudo, a CAT pode ser inibida pelo radical superóxido (O_2^-). O O_2^- é pequeno o suficiente para ter acesso ao grupo heme dessa enzima, acarretando na oxidação da CAT quiescente inibindo-a. Essa inibição acontece por dois mecanismos. O primeiro é por uma inibição rápida que pode ser prevenida e revertida pela SOD. A segunda é pela inibição lenta que pode ser evitada, porém não revertida pela SOD e etanol. Assim, grandes concentrações de O_2^- pode levar a uma inibição da CAT (Kono e Fridovich, 1982). Os nossos resultados mostram aumento significativo, mais do que o dobro, na atividade da SOD Total no grupo TR-P comparado ao SED-P. Contudo, não houve modificações na atividade da CAT. Nesse mesmo grupo observamos que houve peroxidação lipídica no VE. Acreditamos que, possivelmente, a CAT possa ter sido inibida pelo O_2^- , o que pode ter beneficiado ao aumento dos valores do TBARS no grupo TR-P.

A GPx, cuja atividade é dependente da disponibilidade de GSH, tem a função de minimizar a formação de EROS. A GPx também possui um papel importante contra a

peroxidação lipídica devido a decomposição de hidroperóxidos (Droge, 2002). Todavia, não foi observado nenhuma modificação dessa enzima em nenhuma fase do nosso estudo.

A maior atividade de algumas enzimas e da GSH se dá pelo aumento do EROS produzidas pelo próprio exercício, que estimula as defesas antioxidantes para defender o organismo de possíveis lesões, além do aumento da massa muscular, da eficiência cardíaca e do sistema anti-inflamatório. Claro que esses efeitos são dependentes do tipo de exercício, da intensidade e frequência. O aumento da ativação da cadeia transportadora de elétrons, da síntese da xantina oxidase, da NADPH-oxidase, da síntese do ácido láctico, de catecolaminas e do estado inflamatório pós exercício contribui para o aumento das EROS. Esses efeitos podem promover um efeito transitório de aumento da atividade do sistema antioxidante (Cruzat, 2007).

Um estudo prévio, com o objetivo de avaliar o efeito do treinamento de força sub-máximo em um período curto (um mês) e longo de tempo (três meses), sobre a função cardíaca em ratos Wistar, encontrou que a massa cardíaca e relativa do coração aumentaram em ambos os grupos com períodos de tempo de treinamento. A frequência cardíaca basal foi menor no grupo treinado três meses, sendo que houve aumento do fluxo coronário em ambos os grupos. Não foi observado modificações na atividade enzimática da SOD, GPx e CAT e nem peroxidação lipídica em nenhum dos grupos, concluindo que a intensidade sub-máxima foi adequada e segura para o tecido cardíaco (Ahmadiasl, Najafipour *et al.*, 2012). Os resultados do nosso estudo se diferenciam dos citados aqui, provavelmente, devido aos protocolos estudados serem diferentes.

A nossa hipótese sobre a modulação positiva da MMP-2 e antioxidantes pelo TR foi parcialmente confirmada pois, a atividade da MMP-2 Ativa não se modificou com aumento da atividade somente da Mn-SOD e GSH. Contudo, observamos que a atividade das demais isoformas da MMP-2 foram maiores para os animais obesos submetidos ao TR. Nossa hipótese sobre a modulação positiva da MMP-2 e do sistema antioxidante, conforme discutido anteriormente, foi rejeitada.

Para confirmar algumas hipóteses aqui levantadas, análises de áreas de secção transversa, histológicas, do conteúdo de colágeno, de tecido conjuntivo, além outros marcadores pró e antioxidantes, bem como do metabolismo cardíaco, podem iluminar as respostas do exercício resistido em indivíduos obesos com uma alimentação rica em gordura, submetidas ao TR.

Todavia, o nosso estudo traz algumas implicações clínicas importantes. O TR pode, potencialmente, ser um tratamento não farmacológico eficaz para algumas condições

clínicas, como doenças cardiovasculares associadas à obesidade. Em anos recentes, um número crescente de ensaios clínicos e de pesquisa são conduzidos para elucidar possíveis efeitos cardioprotetores do TR, tanto na redução de massa gorda como no aumento da massa muscular, quanto no combate à hipertensão e insuficiência cardíaca. Pacientes com esses males, decorrentes da obesidade, possuem um mau estado clínico e uma capacidade física prejudicada devido a ambas as limitações cardíacas e muscular. Assim, o contínuo avanço científico nessa área poderá nos direcionar a tratamentos mais adequados para a população em geral.

8 CONCLUSÃO

Concluimos que o treinamento resistido de alta intensidade, em ratos obesos, pode ser uma ferramenta não farmacológica capaz de modular de forma positiva (diminuindo) a atividade da MMP-2 e de algumas enzimas antioxidantes (aumento) como a SOD Total, Mn-SOD e a GSH. Efeitos esses que são importantes para a manutenção da saúde cardíaca, amenizando os efeitos deletérios relacionados à obesidade sobre o remodelamento do ventrículo esquerdo, de forma experimental.

Além disso, apesar do fato que o exercício resistido demonstrar seus efeitos benéficos em ratos obesos em nosso trabalho, muitas questões ainda permanecem sem respostas. Assim, são necessários estudos nesta área para avaliar os possíveis efeitos cardioprotetores induzidos pelo exercício resistido em indivíduos obesos.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, T. et al. The fat-mass and obesity-associated (FTO) gene, physical activity, and risk of incident cardiovascular events in white women. **Am Heart J**, v. 160, n. 6, p. 1163-9, Dec 2010. ISSN 1097-6744 (Electronic)

0002-8703 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21146673> >.

AHMADIASL, N. et al. Effect of short- and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **J Physiol Biochem**, v. 68, n. 1, p. 121-8, Mar 2012. ISSN 1877-8755 (Electronic)

1138-7548 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22081441> >.

AKKI, A.; SEYMOUR, A. M. Western diet impairs metabolic remodelling and contractile efficiency in cardiac hypertrophy. **Cardiovasc Res**, v. 81, n. 3, p. 610-7, Feb 15 2009. ISSN 1755-3245 (Electronic)

0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19028723> >.

ANVERSA, P. et al. Myocyte cell loss and myocyte hypertrophy in the aging rat heart. **J Am Coll Cardiol**, v. 8, n. 6, p. 1441-8, Dec 1986. ISSN 0735-1097 (Print)

0735-1097 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2946746> >.

BAL, M. P. et al. Left ventricular pressure-volume relationships during normal growth and development in the adult rat--studies in 8- and 50-week-old male Wistar rats. **Acta Physiol Scand**, v. 185, n. 3, p. 181-91, Nov 2005. ISSN 0001-6772 (Print)

0001-6772 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16218923> >.

BARAUNA, V. G. et al. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. **Clin Med Res**, v. 5, n. 2, p. 114-20, Jun 2007. ISSN 1554-6179 (Electronic)

1539-4182 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17607046> >.

BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **Am J Physiol**, v. 271, n. 5 Pt 1, p. C1424-37, Nov 1996. ISSN 0002-9513 (Print)

0002-9513 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8944624> >.

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> >.

BHANDARI, U. et al. The effect of high-fat diet-induced obesity on cardiovascular toxicity in Wistar albino rats. **Hum Exp Toxicol**, v. 30, n. 9, p. 1313-21, Sep 2011. ISSN 1477-0903 (Electronic)

0960-3271 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21075806> >.

BIRKEDAL-HANSEN, H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. **Curr Opin Cell Biol**, v. 7, n. 5, p. 728-35, Oct 1995. ISSN 0955-0674 (Print)

0955-0674 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8573349> >.

BLAKE, J. et al. Relation of obesity, high sodium intake, and eccentric left ventricular hypertrophy to left ventricular exercise dysfunction in essential hypertension. **Am J Med**, v. 88, n. 5, p. 477-85, May 1990. ISSN 0002-9343 (Print)

0002-9343 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2140011> >.

BRADLEY, R. L. et al. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 295, n. 3, p. E586-94, Sep 2008. ISSN 0193-1849 (Print)

0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18577694> >.

BRANDL, C. E. H. A Consciência Corporal na Perspectiva da Educação Física. 2002.

CAMPBELL, P. T. et al. Effect of Exercise on Oxidative Stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 42, n. 8, p. 1448-1453, 2010. ISSN 0195-9131.

CAO, Y. Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. 2012.

CHIRINOS, J. A. et al. Left ventricular mass: allometric scaling, normative values, effect of obesity, and prognostic performance. **Hypertension**, v. 56, n. 1, p. 91-8, Jul 2010. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20458004> >.

CHOW, A. K.; CENA, J.; SCHULZ, R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 2, p. 189-205, 2007. ISSN 00071188

14765381.

COLE, M. A. et al. A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. **Basic Res Cardiol**, v. 106, n. 3, p. 447-57, May 2011. ISSN 1435-1803 (Electronic)

0300-8428 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21318295> >.

CORNELISSEN, V. A. et al. Impact of resistance training on blood pressure and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Hypertension**, v. 58, n. 5, p. 950-8, Nov 2011. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21896934> >.

CRUZAT, F. V. E. A. M. M. R. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev Bras Med Esporte**, v. Vol. 13, n. 5, 2007.

DAVID, A. L. B. S. B. E. J. M. ESTRESSE OXIDATIVO: RELAÇÃO ENTRE GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA DO ORGANISMO. **Quim. Nova**, 2006.

DE SIMONE, G. et al. Relative fat-free mass deficiency and left ventricular adaptation to obesity: The Strong Heart Study. **Int J Cardiol**, Oct 9 2012. ISSN 1874-1754 (Electronic)

0167-5273 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23063139> >.

DEROSA, G. et al. Matrix metalloproteinase-2 and -9 levels in obese patients. **Endothelium**, v. 15, n. 4, p. 219-24, Jul-Aug 2008. ISSN 1029-2373 (Electronic)

1026-793X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18663625> >.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, v. 82, n. 1, p. 47-95, Jan 2002. ISSN 0031-9333 (Print)

0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11773609> >.

DUARTE, F. O. et al. Food restriction and refeeding induces changes in lipid pathways and fat deposition in the adipose and hepatic tissues in rats with diet-induced obesity. **Exp Physiol**, v. 97, n. 7, p. 882-94, Jul 2012. ISSN 1469-445X (Electronic)

0958-0670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22467759> >.

DUARTE, F. O. et al. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. **Nutrition**, v. 24, n. 2, p. 177-86, Feb 2008. ISSN 0899-9007 (Print)

0899-9007 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18068950> >.

ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218-224, 2004. ISSN 08999007.

FILHO, P. R. P. F. Padrões de Hipertrofia e Geometria do Ventrículo Esquerdo pela Ecocardiografia Transtorácica. 2012.

FINUCANE, M. M. S., G. A.; COWAN, M. J.; DANAEI, G.; LIN, J. K.; PACIOREK, C. J.; SINGH, G. M.; GUTIERREZ, H. R.; LU, Y.; BAHALIM, A. N.; FARZADFAR, F.; RILEY, L. M.; EZZATI, M. . National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. **Lancet**, 2011.

FLECK, S. J. K., WILLIAN J. Cardiovascular Responses to Strenght Training. **Med. Sc. Sports Exerc**, 1998.

GARCIA, J. D.; INCERPI, E. K. Fatores e Mecanismos Envolvidos na Hipertrofia Ventricular Esquerda e o Papel Anti-Hipertrófico do Óxido Nítrico. **Arq Bras Cardiol** v. 90, n. 6, p. 443-450, 2008.

GINSBERG, H. N.; MACCALLUM, P. R. The obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus pandemic: II. Therapeutic management of atherogenic dyslipidemia. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, v. 11, n. 9, p. 520-7, Sep 2009. ISSN 1751-7176 (Electronic)

1524-6175 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19751468> >.

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> >.

HADLER-OLSEN, E. et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. **FEBS Journal**, v. 278, n. 1, p. 28-45, 2011. ISSN 1742464X.

HASKELL, W. L. et al. Physical Activity and Public Health. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 8, p. 1423-1434, 2007. ISSN 0195-9131.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 3, p. 365-7, Mar 1 2003. ISSN 1524-4636 (Electronic)

1079-5642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12639823> >.

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> >.

HUSAIN, K.; HAZELRIGG, S. R. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. **Biochim Biophys Acta**, v. 1587, n. 1, p. 75-82, May 21 2002. ISSN 0006-3002 (Print)

0006-3002 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12009427> >.

JARMILA MACHACKOVA, J. B. A. N. S. D. Myofibrillar remodelling in cardiac hypertrophy, heart failure and cardiomyopathies. **Can J Cardiol**, 2006.

JENSEN, L. T.; HOST, N. B. Collagen: scaffold for repair or execution. **Cardiovasc Res**, v. 33, n. 3, p. 535-9, Mar 1997. ISSN 0008-6363 (Print)

0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9093523> >.

JOHANSSON, L. H.; BORG, L. A. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Anal Biochem**, v. 174, n. 1, p. 331-6, Oct 1988. ISSN 0003-2697 (Print)

0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3064653> >.

JOHNSTON, A. P.; DE LISIO, M.; PARISE, G. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 33, n. 1, p. 191-9, Feb 2008. ISSN 1715-5312 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18347672> >.

KANDASAMY, A. D. et al. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. **Cardiovasc Res**, v. 85, n. 3, p. 413-23, Feb 1 2010. ISSN 1755-3245 (Electronic)

0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19656780> >.

KIRIAZIS, H.; GIBBS, C. L. Effects of aging on the work output and efficiency of rat papillary muscle. **Cardiovasc Res**, v. 48, n. 1, p. 111-9, Oct 2000. ISSN 0008-6363 (Print)

0008-6363 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11033113> >.

KONO, Y.; FRIDOVICH, I. Superoxide radical inhibits catalase. **J Biol Chem**, v. 257, n. 10, p. 5751-4, May 25 1982. ISSN 0021-9258 (Print)

0021-9258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6279612> >.

KOPELMAN, P. Health risks associated with overweight and obesity. **Obes Rev**, v. 8 Suppl 1, p. 13-7, Mar 2007. ISSN 1467-7881 (Print)

1467-7881 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17316295> >.

KRALISCH, S. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 predicts adiposity in humans. **Eur J Endocrinol**, v. 156, n. 2, p. 257-61, Feb 2007. ISSN 0804-4643 (Print)

0804-4643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17287416> >.

KWAK, H. B. et al. 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 1530-6860 (Electronic)

0892-6638 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21148111> >.

LEVY, D. et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **N Engl J Med**, v. 322, n. 22, p. 1561-6, May 31 1990. ISSN 0028-4793 (Print)

0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2139921> >.

MARKLUND, S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. **Acta Physiol Scand Suppl**, v. 492, p. 19-23, 1980. ISSN 0302-2994 (Print)

0302-2994 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6939305> >.

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. Matrix metalloproteinase 2 activity in tendon regions: effects of mechanical loading exercise associated to anabolic-androgenic steroids. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 6, p. 1087-93, Dec 2008. ISSN 1439-6319 (Print)

1439-6319 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18810485> >.

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> >.

MORAES, M. R. et al. Effect of 12 weeks of resistance exercise on post-exercise hypotension in stage 1 hypertensive individuals. **J Hum Hypertens**, v. 26, n. 9, p. 533-9, Sep 2012. ISSN 1476-5527 (Electronic)

0950-9240 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21734721> >.

MORGUNOV, I.; SRERE, P. A. Interaction between Citrate Synthase and Malate Dehydrogenase. **THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY**, v. 273, n. November 6, 1998.

NOEMAN, S. A.; HAMOODA, H. E.; BAALASH, A. A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetol Metab Syndr**, v. 3, n. 1, p. 17, 2011. ISSN 1758-5996 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21812977> >.

NYMAN, J. S. et al. Differential effects between the loss of MMP-2 and MMP-9 on structural and tissue-level properties of bone. **J Bone Miner Res**, v. 26, n. 6, p. 1252-60, Jun 2011. ISSN 1523-4681 (Electronic)

0884-0431 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21611966> >.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-8, Jun 1979. ISSN 0003-2697 (Print)

0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36810> >.

ORGANIZATION, W. H. Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable diseases.

2013.

PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. **Essays Biochem**, v. 42, p. 105-17, 2006. ISSN 0071-1365 (Print)

0071-1365 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17144883> >.

PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. **Nat Rev Endocrinol**, v. 8, n. 8, p. 457-65, Aug 2012. ISSN 1759-5037 (Electronic)

1759-5029 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22473333> >.

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> >.

PESCATELLO, L. S. et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 3, p. 533-53, Mar 2004. ISSN 0195-9131 (Print)

0195-9131 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15076798> >.

QI, X. L.; ROULEAU, J. L. Age-dependent changes in the effects of endocardial endothelium on the contractile characteristics of its adjacent myocardium in rats. **J Mol Cell Cardiol**, v. 29, n. 2, p. 823-9, Feb 1997. ISSN 0022-2828 (Print)

0022-2828 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9140838> >.

REISIN, E.; JACK, A. V. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches. **Med Clin North Am**, v. 93, n. 3, p. 733-51, May 2009. ISSN 1557-9859 (Electronic)

0025-7125 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19427502> >.

ROSENBAUM, M. L., R. L.; HIRSCH, J. . Obesity. **N Engl J Med**, 1997.

SAWICKI, G. et al. Degradation of myosin light chain in isolated rat hearts subjected to ischemia-reperfusion injury: a new intracellular target for matrix metalloproteinase-2. **Circulation**, v. 112, n. 4, p. 544-52, Jul 26 2005. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16027249> >.

SCHULZ, R. Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 47, p. 211-42, 2007. ISSN 0362-1642 (Print)

0362-1642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17129183> >.

SENE-FIORESE, M. et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. **Obesity (Silver Spring)**, v. 16, n. 10, p. 2217-22, Oct 2008. ISSN 1930-7381 (Print)

1930-7381 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18719640> >.

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> >.

SILVESTRI, C.; LIGRESTI, A.; DI MARZO, V. Peripheral effects of the endocannabinoid system in energy homeostasis: adipose tissue, liver and skeletal muscle. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 12, n. 3, p. 153-62, Sep 2011. ISSN 1573-2606 (Electronic)

1389-9155 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21336842> >.

SIVONOVA, M. et al. Relationship between antioxidant potential and oxidative damage to lipids, proteins and DNA in aged rats. **Physiol Res**, v. 56, n. 6, p. 757-64, 2007. ISSN 0862-8408 (Print)

0862-8408 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17087608> >.

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> >.

STEHNO-BITTEL, L. Intricacies of Fat. **Physical Therapy**, v. 88, n. 11, p. 1265-1278, 2008. ISSN 0031-9023

1538-6724.

STRASSER, B.; ARVANDI, M.; SIEBERT, U. Resistance training, visceral obesity and inflammatory response: a review of the evidence. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 7, p. 578-591, 2012. ISSN 14677881.

SUNDELL, J. Resistance Training Is an Effective Tool against Metabolic and Frailty Syndromes. **Adv Prev Med**, v. 2011, p. 984683, 2011. ISSN 2090-3499 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21991450> >.

SUNG, M. M. et al. Matrix metalloproteinase-2 degrades the cytoskeletal protein alpha-actinin in peroxynitrite mediated myocardial injury. **J Mol Cell Cardiol**, v. 43, n. 4, p. 429-36, Oct 2007. ISSN 0022-2828 (Print)

0022-2828 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17854826> >.

UNGER, R. H.; ORCI, L. Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders. **FASEB J**, v. 15, n. 2, p. 312-21, Feb 2001. ISSN 0892-6638 (Print)

0892-6638 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11156947> >.

VANCINI, R. L.; SILVA, C. A. B. D. L. D. P. G. J. N. A. C. D.; NOUAILHETAS, V. L. A. E. INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO SOBRE A PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, 2004.

VERZOLA, R. M. et al. Early remodeling of rat cardiac muscle induced by swimming training. **Braz J Med Biol Res**, v. 39, n. 5, p. 621-7, May 2006. ISSN 0100-879X (Print)

0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648900> >.

VIAPPIANI, S. et al. Activation and modulation of 72kDa matrix metalloproteinase-2 by peroxynitrite and glutathione. **Biochem Pharmacol**, v. 77, n. 5, p. 826-34, Mar 1 2009. ISSN 1873-2968 (Electronic)

0006-2952 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19046943> >.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. 6, p. 813-839, 2007. ISSN 1462-8902

1463-1326.

VINCENT, H. K., POWERS, S. K., DIRKS, A.J. AND SCARPACE, P. J. Mechanism for obesity induced increase in myocardial lipid peroxidation, **International Journal of Obesity International Journal of Obesity** 2001.

WANG, W. et al. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. **Circulation**, v. 106, n. 12, p. 1543-9, Sep 17 2002. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12234962> >.

WANG, Y.; WISLOFF, U.; KEMI, O. J. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. **Physiol Res**, v. 59, n. 5, p. 633-44, 2010. ISSN 0862-8408 (Print)

0862-8408 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20406038> >.

WEBER, K. T. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. **J Am Coll Cardiol**, v. 13, n. 7, p. 1637-52, Jun 1989. ISSN 0735-1097 (Print)

0735-1097 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2656824> >.

WESTCOTT, W. L. Resistance training is medicine: effects of strength training on health. **Curr Sports Med Rep**, v. 11, n. 4, p. 209-16, Jul-Aug 2012. ISSN 1537-8918 (Electronic)

1537-890X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22777332> >.

WHEELER, C. R. et al. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. **Anal Biochem**, v. 184, n. 2, p. 193-9, Feb 1 1990. ISSN 0003-2697 (Print)

0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2327564> >.

WILLIAMS, M. A. et al. Resistance Exercise in Individuals With and Without Cardiovascular Disease: 2007 Update: A Scientific Statement From the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v. 116, n. 5, p. 572-584, 2007. ISSN 0009-7322

1524-4539.

WILSON, C. R. et al. Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of Wistar rats. **Biochem J**, v. 406, n. 3, p. 457-67, Sep 15 2007. ISSN 1470-8728 (Electronic)

0264-6021 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17550347> >.

WONG, C.; MARWICK, T. H. Obesity cardiomyopathy: pathogenesis and pathophysiology. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med**, v. 4, n. 8, p. 436-43, Aug 2007. ISSN 1743-4300 (Electronic)

1743-4297 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17653116> >.

YAN, Z. C. et al. Exercise reduces adipose tissue via cannabinoid receptor type 1 which is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-delta. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 354, n. 2, p. 427-33, Mar 9 2007. ISSN 0006-291X (Print)

0006-291X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17223076> >.

YEGHIAZARYAN, M. et al. Fine-structural distribution of MMP-2 and MMP-9 activities in the rat skeletal muscle upon training: a study by high-resolution in situ zymography. **Histochem Cell Biol**, v. 138, n. 1, p. 75-87, Jul 2012. ISSN 1432-119X (Electronic)

0948-6143 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22419075> >.

YU, T. Y. et al. Aging is associated with increased activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in tenocytes. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 14, n. 1, p. 2, Jan 2 2013. ISSN 1471-2474 (Electronic)

1471-2474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23281803> >.

ZAMBON, L. et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. 2009.