

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

FERNANDA DANIELI MARINI

**OS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA REPOSIÇÃO COM  
ESTRADIOL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE A GLICEMIA,  
INSULINEMIA E MORFOLOGIA DE ADIPÓCITOS.**

**São Carlos – SP**

**2018.**

**FERNANDA DANIELI MARINI**

**OS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO E DA REPOSIÇÃO COM  
ESTRADIOL EM RATAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE A GLICEMIA,  
INSULINEMIA E MORFOLOGIA DE ADIPÓCITOS.**

Dissertação que foi apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Fisiológicas com associação ampla UFSCar/UNESP da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas;

**Orientador: Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez**

**São Carlos – SP**

**2018.**



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS


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

---

### Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Fernanda Danieli Marini, realizada em 07/03/2018:



---

Prof. Dr. Sergio Eduardo de Andrade Perez  
UFSCar

---

Prof. Dr. Fabiano Candido Ferreira  
UNICEP

---

Profa. Dra. Anabelle Silva Cornachione  
UFSCar

## RESUMO

A ovariectomia (OVX) em ratas simula a menopausa e resulta na diminuição dos níveis de estrógeno, podendo estar associada a morbidades como obesidade central e anormalidades metabólicas. Neste estudo, avaliamos os efeitos da reposição com estradiol (RE) e do treinamento resistido (TR) na área dos adipócitos nos depósitos mesentérico, retroperitoneal e na sensibilidade à insulina de ratas OVX. Trinta ratas fêmeas Sprague-Dowley foram divididas em 5 grupos: Sham-Sedentárias (Sham-Sed), Ovariectomizadas-Sedentárias (Ovx-Sed), Sham-Treinadas (Sham-TR), Ovariectomizadas-Treinadas (Ovx-TR) e Ovariectomizadas-Sedentárias-Reposição (Ovx-Sed-RE). A RE foi feita por meio de cápsulas silásticas, contendo  $17\beta$ -estradiol, nas semanas 0 e 6. O TR teve duração de 12 semanas. A morfologia foi avaliada por análise histológica. As ratas ovariectomizadas (Ovx-Sed, Ovx-TR) apresentaram maior massa corporal e gordura corporal quando comparadas ao grupo Sham-Sed. As concentrações de glicose e insulina foram semelhantes em todos os grupos experimentais. As ratas OVX apresentaram maior área dos adipócitos nos depósitos mesentérico e retroperitoneal e as ratas treinadas menor área dos adipócitos nos mesmos depósitos. Entretanto, maior área dos adipócitos foi observado nos animais tratados com RE tanto nos depósitos mesentérico como retroperitoneal, sugerindo, dessa forma, que a reposição com estradiol pode ter sido realizada em doses suprafisiológicas. Conclui-se que ratas OVX submetidas a 12 semanas de TR apresentam menor massa corporal e área de adipócitos nos depósitos mesentérico e retroperitoneal.

**Palavras-chave:** Ovariectomia. Menopausa. Resistência a insulina. Reposição com estradiol. Treinamento resistido.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico essa tese a todos que acreditaram em mim e me deram apoio nos momentos difíceis, meus pais Marivaldo e Célia, minhas irmãs Flávia e Fabiana, meu marido José Henrique, meu filho Rafael, meus amigos e minha família.

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por guiar meus passos e permitir que eu alcançasse mais este objetivo.

Ao meu Pai amado **Marivaldo** por sempre ser o melhor exemplo de força e caráter, obrigada por estar ao meu lado me orientando, dizendo palavras de força e incentivo.

À minha querida Mãe **Célia** que sempre me auxiliou e apoiou nos momentos mais difíceis, obrigada por acreditar em mim.

Às minhas queridas e amadas irmãs **Flávia** e **Fabiana** pelos bons momentos de descontração, apoio e carinho. Amo vocês!!

À minha querida sogra **Silvana Marini** por sempre estar ao meu lado nos momentos que precisei, me dando suporte com meu filho, cuidando dele quando necessário, para realização deste trabalho. Obrigada pelo apoio!!

Ao amor da minha vida **José Henrique**, pela paciência, amor, carinho, confiança e imensa generosidade, me apoiando nos momentos difíceis e cuidando do nosso Filho Rafael quando por conta deste trabalho eu não pude estar presente. Isso me faz te admirar cada vez mais e lembrar de agradecer a Deus todos os dias por ter te encontrado. Amo você meu amor!!

Ao meu Filho **Rafael** (11 meses) meu grande amor que sem ter ideia divertiu muito meus dias e fez tudo valer a pena com seus sorrisos.

Ao meu orientador, Professor Doutor **Sérgio Eduardo de Andrade Perez**, pelo incentivo e confiança em meu trabalho, obrigada pelos ensinamentos e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia do Exercício-UFSCar, aos meus companheiros de projeto, **Cristiani Gomes, Natalia Santanielo, Anderson Lino, Fabiano Candido Ferreira, Gustavo Canevazzi** e **Jeferson Teixeira**. Sempre aprendi muito com cada um de vocês! Agradeço especialmente à **Maria Fernanda Cury** que além de amiga pessoal sempre esteve ao meu lado como pesquisadora me auxiliando em tudo que precisei, me passando seus ensinamentos!! Minha eterna gratidão amiga querida!!

Às pesquisadoras e professoras, **Anabelle Silva Cornachione**, **Graziéle Deriggi Pisani** que sempre me auxiliaram em tudo que precisei. Agradeço especialmente à Professora **Anabelle Silva Cornachione** por compartilhar seus conhecimentos, o que foi fundamental para a realização deste trabalho.

À Professora Doutora **Heloísa Selistre de Araújo**, que sempre disponibilizou seu laboratório e equipamentos que me auxiliaram e foram fundamentais para a realização desse trabalho. Muito obrigada pelo apoio!!

Ao Professor Doutor **Vilmar Baldissera**, pelas aulas que me auxiliaram no ingresso ao programa de mestrado em ciências fisiológicas, pelos ensinamentos no dia a dia que auxiliaram para a minha maturação profissional. Muito obrigada!!

À minha amiga e técnica do Laboratório de Fisiologia do Exercício **Tatiane Passos Araújo**, por sempre me ouvir nos momentos difíceis e me apoiar quando precisei.

À FCFAR – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Laboratório de Bioquímica e Enzimologia Clínicas – Unesp.

À **CAPES**, e ao **Programa Interinstitucional de Pós-Graduação UFSCar/UNESP** da Universidade Federal de São Carlos, pela bolsa de estudos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AGL</b>	<b>Ácidos Graxos Livres</b>
<b>HDL</b>	<b>Lipoproteína de alta densidade</b>
<b>IR</b>	<b>Receptor da insulina</b>
<b>IRS-1</b>	<b>Receptor do substrato 1 da insulina</b>
<b>IL-1</b>	<b>Interleucina-1</b>
<b>IL-6</b>	<b>Interleucina-6</b>
<b>IL-10</b>	<b>Interleucina-10</b>
<b>LPS</b>	<b>Lipopolissacarídeos</b>
<b>MCP-1</b>	<b>Proteína quimioatraente de monócito-1</b>
<b>OVX</b>	<b>Ovariectomia</b>
<b>iNOs</b>	<b>Óxido nítrico sintase induzida</b>
<b>PCR</b>	<b>Proteína-C-reativa</b>
<b>TA</b>	<b>Tecido adiposo</b>
<b>TAG</b>	<b>Triacilglicerol</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>Fator de necrose tumoral alfa</b>
<b>TAM</b>	<b>Tecido adiposo marrom</b>
<b>TAB</b>	<b>Tecido adiposo branco</b>
<b>TABV</b>	<b>Tecido adiposo branco visceral</b>
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	<b>Fator transformador de crescimento -<math>\beta</math></b>
<b>TR</b>	<b>Treinamento resistido</b>
<b>TRH</b>	<b>Terapia de reposição hormonal</b>
<b>RE</b>	<b>Reposição de estrogênio</b>
<b>RH</b>	<b>Reposição hormonal</b>



## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1 Obesidade e Menopausa</b> .....	11
<b>1.2 Obesidade e inflamação</b> .....	13
<b>1.3 Tecido Adiposo</b> .....	13
<b>1.4 Ação da insulina no tecido adiposo e músculo esquelético</b> .....	15
<b>1.5 Adiponectina</b> .....	16
<b>1.6 Fator de necrose tumoral (TNF-<math>\alpha</math>)</b> .....	17
<b>1.7 Interleucina 6 (IL-6)</b> .....	18
<b>1.8 Exercício Físico no controle da obesidade</b> .....	18
<b>1.9 Treinamento resistido no controle da obesidade e inflamação</b> .....	19
<b>1.9.1 Reposição de estrogênio nas alterações promovidas pela ovariectomia</b> .....	21
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	22
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	22
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	22
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	23
<b>3.1 Aprovação do comitê de ética</b> .....	23
<b>3.2 Animais</b> .....	23
<b>3.3 Grupos experimentais</b> .....	23
<b>3.4 Procedimentos Cirúrgicos da Ovariectomia e da operação Sham</b> .....	23
<b>3.5 Reposição de Estrogênio</b> .....	24
<b>3.6 Protocolo de Escada – TREINAMENTO RESISTIDO</b> .....	25
<b>3.6.1 Aparatos de treinamento</b> .....	25
<b>3.6.2 Familiarização ao Treinamento</b> .....	25
<b>3.6.3 Determinação da Carga de Carregamento</b> .....	25
<b>3.6.4 Sessões de Treinamento</b> .....	26
<b>3.7 Eutanásia dos animais e coleta dos tecidos</b> .....	27
<b>3.8 Determinação dos níveis de 17<math>\beta</math>- estradiol no soro</b> .....	27
<b>3.9 Análises Histológicas</b> .....	27
<b>3.10 Análise de Glicose</b> .....	28
<b>3.11 Análise de Insulina</b> .....	28
<b>3.12 Análise Estatística</b> .....	28

<b>4. RESULTADOS</b> .....	29
<b>4.1 Efeitos da Ovariectomia, treinamento resistido e reposição hormonal sobre parâmetros biométricos:</b> .....	29
<b>4.2 Evolução da carga máxima de carregamento durante 12 semanas de treinamento.</b> .....	29
<b>4.3 Níveis de 17<math>\beta</math> estradiol no soro de ratas.</b> .....	29
<b>4.4 Morfologia do tecido adiposo mesentérico</b> .....	30
<b>4.5 Morfologia do tecido adiposo Retroperitoneal</b> .....	30
<b>4.6 Níveis de glicose no soro de ratas</b> .....	30
<b>4.7 Níveis de insulina no soro de ratas</b> .....	31
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	41
<b>7. FUTURAS INVESTIGAÇÕES</b> .....	41
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	42

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Obesidade e Menopausa

Um problema de saúde pública que teve aumento significativo na prevalência nas últimas décadas foi a obesidade (WHO, 2015). Segundo Marti e Martinez (2001), a obesidade é uma condição patológica acompanhada por acúmulo excessivo de gordura quando comparada com valores previstos para uma dada estrutura, gênero e idade.

Dessa forma, o que determina o acúmulo excessivo de gordura e, por consequência, a obesidade, é o balanço energético positivo que pode ser definido como a diferença entre a quantidade de energia consumida e a quantidade de energia gasta na realização das funções vitais e de atividades em geral. Pode tornar-se positivo quando a quantidade de energia consumida é maior do que a quantidade gasta, resultando em acúmulo de gordura (KOLOTKIN et al, 2001).

Em 2014, 39% dos adultos com 18 anos ou com idade superior estavam acima do peso e 13% eram obesos. Em 2013, 42 milhões de crianças menores de 5 anos de idade estavam acima do peso ou obesos (WHO, 2015). No Brasil especificamente, dados demonstram que existem cerca de 1,6 bilhões de pessoas adultas (maiores que 15 anos) com sobrepeso e 400 milhões com obesidade (IBGE 2005).

O excesso de peso é mais prevalente entre o sexo feminino, sendo que cerca de 30% das mulheres ocidentais são portadoras de obesidade nos anos em que se seguem a menopausa. Cerca de 12,5% da população brasileira são mulheres obesas. (IBGE, 2005).

Tamanha proporção tem preocupado autoridades sanitárias de vários países, visto que há uma relação direta entre obesidade e o risco aumentado para o desenvolvimento de hipertensão arterial, assim como, doenças cardiovasculares, diabetes melito e neoplasias, dentre as quais estão o câncer de mama, endométrio e cólon (NEVES-E-CASTRO, 2009).

A menopausa é clinicamente diagnosticada após um ano de ausência de menstruação espontânea. A menopausa e ou climatério do grego (*Klimakter*) que significa “escada”, nada mais é do que uma escada descendente da função dos ovários que por consequência diminuem a produção dos níveis dos estrogênios e marca a transição da fase reprodutiva à não reprodutiva da vida da mulher. (NEVES-E-CASTRO, 2009).

Adicionalmente, além de exercer efeitos sobre a reprodução, os estrogênios regulam vias metabólicas incluindo a função e biogênese mitocondrial, transporte e oxidação de ácidos graxos, lipogênese e lipólise (JACKSON et al, 2013; VELARDE, 2013).

Sendo assim, com a diminuição drástica dos hormônios sexuais causados pela menopausa, sintomas de ordem psíquica como irritabilidade, diminuição da libido, falta de memória e concentração também são comuns em mulheres nesta fase, pois as atividades neuronais e as conexões sinápticas também são reguladas por esses mesmos hormônios (NEVES-E-CASTRO, 2009).

A falta de estrogênios pode causar certo grau de resistência à insulina. Quando isso ocorre é necessário que o pâncreas secrete mais insulina a fim de estimular a captação de glicose pelas células menos sensíveis à insulina. Há, portanto, mais insulina circulante, isto resulta em um aumento da lipogênese e de triglicérides que é o principal fator de risco cardiovascular em mulheres (NEVES-E-CASTRO, 2009).

Além disso, as flutuações hormonais presentes durante a menopausa favorecem não só o aumento do peso corporal, como também a maior adiposidade abdominal devido a redistribuição do tecido gorduroso (BINFA et al., 2001; CARVALHEIRA et al., 2006). Outros fatores como hipertensão arterial e baixo HDL (lipoproteína de alta densidade), contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares podendo levar a morte nesta fase da vida da mulher.

Contudo, esse aumento da adiposidade abdominal pela redistribuição do tecido adiposo facilita a mobilização de ácidos graxos para o interior do fígado, causando desequilíbrios na função hepática, além de promover o surgimento de complicações metabólicas (BOUCHARD; DEPRÉS; MAURIEGE, 1993; WAJCHENBERG, 2000). Essas complicações metabólicas incluem: hipertensão, resistência à insulina, hiperglicemia e dislipidemia. Essa associação de transtornos é chamada de Síndrome Metabólica (VEGA, 2001).

Então, o reconhecimento do impacto da obesidade como fator de risco para a saúde tem provocado interesse, cada vez mais eminente, na determinação de modelos que venham simular a menopausa para melhor compreender as alterações que ocorrem nesse período da vida da mulher. A Ovariectomia (OVX) em ratas é um modelo experimental que mimetiza a menopausa e resulta na diminuição dos níveis de estrógeno (SIMS et al., 1996).

Além disso, a determinação de ferramentas que venham intervir de maneira eficaz, e não farmacológica, na redistribuição do tecido adiposo branco e ou diminuição dos depósitos de gordura visceral e intraperitoneal, são imprescindíveis para a diminuição do ganho de peso e controle da inflamação do tecido adiposo.

## 1.2 Obesidade e inflamação

A inflamação pode ser definida como o conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas em resposta a estímulos agressivos ao organismo. Tanto na fase aguda quanto na crônica, mediadores inflamatórios agem de maneira local ou sistêmica, ativando outras células envolvidas com o processo inflamatório (células endoteliais, fibroblastos e células do sistema fagocítico mononuclear), ampliando, assim, a resposta inicial ao agente lesivo (KHOVIDHUNKIT et al, 2004; KUMAR et al, 2004).

Sabe-se que o estado de inflamação crônica subclínica provoca lesão tissular incipiente por meio da ativação a longo prazo do sistema imune inato, podendo causar posterior manifestação de doenças crônicas não transmissíveis, como as cardiovasculares, o diabetes melito, a obesidade, o câncer, entre outras (LAHOZA, MOSTAZAA, 2007).

O mecanismo pelo qual estes mediadores pró-inflamatórios levam à manifestação dessas doenças parece envolver a atenuação da atividade insulínica, mobilização de gorduras, disfunção endotelial e estresse oxidativo (LAHOZA, MOSTAZAA, 2007).

Com o ganho de peso e ou obesidade ocorre hipertrofia dos adipócitos e consequente compressão dos vasos sanguíneos no tecido adiposo, impedindo um suprimento adequado de oxigênio, acarretando em uma hipóxia local e morte de alguns adipócitos. Esse quadro desencadearia uma cascata de resposta inflamatória através da quimiotaxia de macrófagos o que induziria a estimulação da expressão de genes pró-inflamatórios (NEELS, OLEFSKY, 2006; WOOD et al, 2009).

A elevação de marcadores inflamatórios em resposta a hipóxia local e morte dos adipócitos como fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 e 6 (IL-1 e IL-6), proteína quimioatrativa de monócitos e macrófagos (MCP-1), leptina, entre outros, são observados também na obesidade (NEELS, OLEFSKY, 2006; WOOD et al, 2009).

## 1.3 Tecido Adiposo

O Tecido adiposo (TA) apresenta um papel importante na função endócrina e a sua distribuição, até mais que o seu próprio acúmulo está relacionada com a alta incidência de doenças como obesidade, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemias, entre outras (FONSECA-ALANIZ et al.2006, FEDERICO et al.2010).

Por apresentar um relevante papel na função endócrina o TA pode ser categorizado como órgão e consiste em um tipo especial de tecido conjuntivo que é composto por diferentes tipos celulares, tais como, células endoteliais, macrófagos, células do estroma vascular, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos (AHIMA, FLIER, 2000).

Os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de lipídeos na forma de triacilglicerol (TAG) em seu citoplasma, pois apresentam maquinaria enzimática necessária para sintetizar ácidos graxos (lipogênese), e estocar TAG em oferta abundante de energia e mobilização pela lipólise quando há déficit calórico. Sendo assim, a hipertrofia dos adipócitos é uma característica dos indivíduos obesos ou com sobrepeso, enquanto a hiperplasia parece estar relacionada com graus mais severos de obesidade (GIL et al. 2011).

Nos mamíferos o TA pode ser dividido em dois tipos, o tecido adiposo branco (TAB) especializado no armazenamento de energia além da sua importante função como órgão endócrino envolvido também no controle e na regulação do peso corporal; e o tecido adiposo marrom (TAM), o principal tecido regulador da termogênese em resposta a ingestão alimentar e frio (GIL et al. 2011).

As necessidades energéticas, sinalizações neurais e hormonais, regulam os processos no tecido adiposo como lipólise, lipogênese e atividade secretora através das adipocinas, além do processo de plasticidade (proliferação, diferenciação e apoptose) (FONSECA-ALANIZ et al.2006, GIL et al.2011). É então sobre o comando do sistema nervoso central, através das sinalizações neurais diretas e indiretas, que ocorrem os comportamentos de busca e ingestão alimentar (AHIMA, FLIER, 2000).

Os depósitos de TAB podem ser classificados de acordo com sua localização anatômica e apresentam diferenças funcionais e de metabolismo que variam de região para região (FONSECA-ALANIZ et al. 2006, GIL et al. 2011). Sendo assim, o TAB é dividido em subcutâneo (TAS) e visceral (TAV) (localizado dentro da cavidade abdominal) e ambos contem subdivisões (CINTI 2005, GIL et al.2011, CINTI 2012).

O TAS responde melhor aos efeitos antilipolíticos da insulina, secreta mais adiponectina e menos citocinas inflamatórias. Já o acúmulo de gordura visceral tem sido relacionado com danos no metabolismo da glicose, desordens lipídicas, hipertensão, além de causar aumento na secreção de adipocinas (FONSECA-ALANIZ et al. 2006, GIL et al. 2011).

A gordura abdominal corresponde à soma da gordura subcutânea abdominal e intra-abdominal, sendo que, o compartimento intra-abdominal compreende a gordura visceral e intra-peritoneal, principalmente composta pela gordura omental e mesentérica, e pela massa gordurosa retroperitoneal respectivamente, que acompanha a borda dorsal dos intestinos e a superfície frontal dos rins (WAJCHENBERG, 2000). Da mesma forma, a gordura subcutânea abdominal pode ser dividida em superficial e profunda, as quais são separadas

por fácias superficiais (FRAYN, 2000; KELLEY et al., 2000; SMITH, 2001; ROSS et al., 2002).

Alguns estudos confirmaram a forte relação que existe entre a distribuição do TA e desenvolvimento de alterações metabólicas, pois na obesidade abdominal ocorre deposição de gordura diretamente no sistema venoso portal, devido à mobilização mais rápida de ácidos graxos livres, levando a um impacto potencialmente maior na função hepática e, conseqüentemente, ao favorecimento de anormalidades metabólicas (JENSEN, 1997; ALBU; KOVERA; JOHNSON, 2000; ANDERSON et al., 2001; DEPRÉS, 2001; CNOP, 2002).

Sabe-se que o TA também produz e secreta TNF- $\alpha$  e IL-6, que são duas citocinas pró-inflamatórias envolvidas com a resistência à insulina e metabolismo de carboidratos e lipídeos (FONSECA-ALANIZ et al.2006). Entretanto, com o músculo, o TA exerce um importante papel no metabolismo da glicose e esses efeitos são mediados pela insulina (DIMITRIADIS et al. 2011).

#### **1.4 Ação da insulina no tecido adiposo e músculo esquelético**

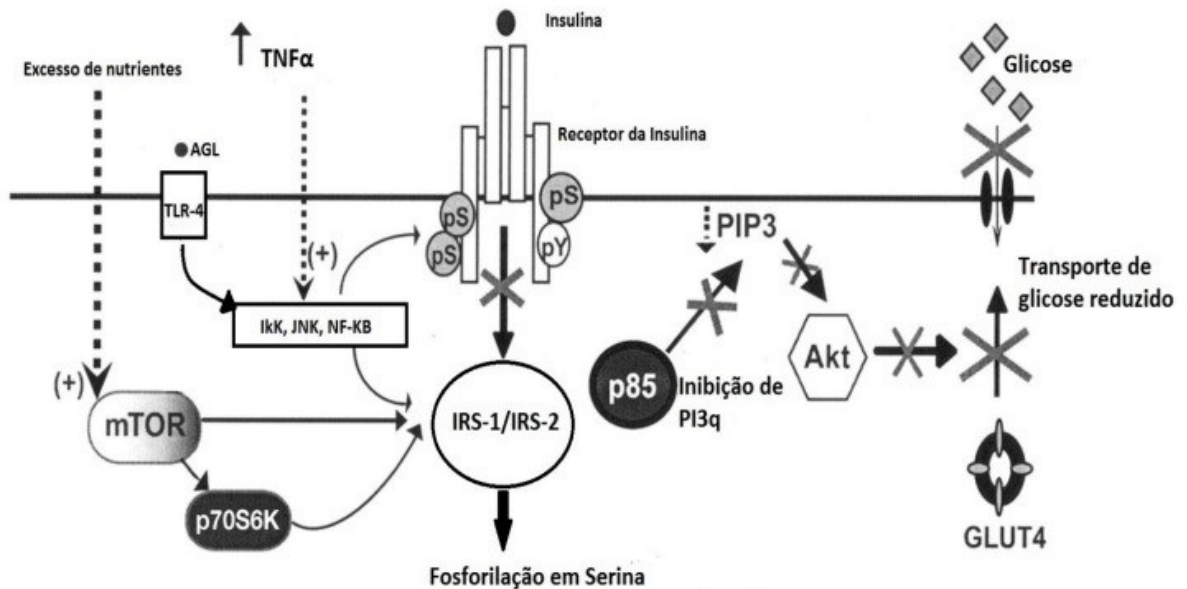
A ação da insulina sobre seus receptores, presentes tanto no TA como no tecido muscular, aumenta o transporte de glicose através da membrana celular, aumenta a taxa de glicólise pelo aumento da atividade da hexoquinase e da 6-fosfofrutoquinase estimulando assim a síntese e diminuindo a taxa de hidrólise de glicogênio (DIMITRIADIS et al. 2011).

No Tecido Adiposo a insulina favorece a lipogênese (através da regulação da transcrição de enzimas lipogênicas, captação de glicose, além de inibir a lipólise). Durante o período pós-prandial, a insulina secretada é capaz de estimular a translocação da vesícula intracelular GLUT4 que é a isoforma do transportador de glicose presente nos adipócitos e, assim, é apresentada na membrana dos adipócitos (WATSON & PESSIN 2001, DUCLUZEAU et al. 2002, HOU & PESSIN 2007, ZEYDA & STULNIG 2009, JORDENS et al.2010, DIMITRIADIS et al. 2011).

A resistência à insulina é um processo multifatorial e não está totalmente esclarecido. Um dos possíveis mecanismos que levariam o desenvolvimento de resistência à insulina seria que quando há excesso de nutrientes, uma proteína chamada mTOR é estimulada inibindo parcialmente a estimulação dos substratos IRS/1 e IRS/2 que são ativados por sua ligação com a insulina. Então, quando não ocorre a ligação insulina–receptor (IRS/1 e IRS/2), a Akt não é fosforilada e, dessa maneira, não ocorre a translocação da vesícula

intracelular GLUT4 que transporta a glicose para dentro dos adipócitos (BARBOUR L.A et al, 2007).

**Figura 1** – Esquema de resistência à insulina pelo excesso de nutrientes.



Fonte: Adaptado de Barbour L.A et al, 2007.

## 1.5 Adiponectina

A adiponectina é um hormônio secretado principalmente pelo tecido adiposo e desempenha um papel importante por apresentar propriedades anti-inflamatórias e anti-aterogênicas (HARA *et al.*, 2005; AHMADIZAD; HAGHIGHI; HAMEDINIA, 2007; SIMPSON; SINGH, 2008). Assim, baixas concentrações sanguíneas desse hormônio têm sido inversamente associadas com obesidade, resistência à insulina e diabetes tipo 2 em humanos e em animais.

Da mesma forma, níveis sanguíneos de adiponectina têm sido relacionados positivamente com melhoras na sensibilidade à insulina e pela expressão de pelo menos dois de seus receptores da membrana celular: AdipoR1 e AdipoR2. Por outro lado, indivíduos obesos tendem a apresentar níveis elevados do receptor AdipoR1, como forma compensatória aos reduzidos níveis de adiponectina sérica, comparados com pessoas eutróficas (BLÜHER *et al.*, 2006). Além disso, ela age diretamente no aumento da produção



de óxido nítrico e na diminuição de substâncias relacionadas aos efeitos pró-inflamatórios, como proteína-C-reativa (PCR), IL-6 e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral) (SIMPSON; SINGH, 2008).

### **1.6 Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ )**

O fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) é uma citocina multifuncional que apresenta a capacidade de regular vários processos celulares e biológicos tais como, função imunológica, diferenciação, proliferação, apoptose celular e metabolismo energético. Isso sugere que ele apresente função endócrina por mediar sinais autócrinos e parácrinos (SETHI, CAWTHORN, 2007).

Estas funções endócrinas do TNF- $\alpha$  dependem da manutenção dos seus altos níveis circulantes, o que geralmente ocorre na presença de doenças catabólicas como sepse e câncer. Em contraste, na diabetes tipo 2 associada à obesidade os níveis de TNF- $\alpha$  encontram-se aumentados no tecido adiposo, enquanto seus níveis circulantes são menores do que os presentes nas doenças catabólicas (HOTAMISLIGIL, SHARGILL, SPIEGELMAN, 1993).

As ações do TNF- $\alpha$  nos adipócitos podem alterar o metabolismo lipídico através da inibição da absorção dos ácidos graxos livres na lipogênese e estimulação da lipólise com a quebra e lançamento dos mesmos na corrente sanguínea. Dessa forma, o TNF- $\alpha$  derivado do tecido adiposo pode contribuir para o desenvolvimento de dislipidemias e resultar em complicações metabólicas (SETHI, CAWTHORN, 2007).

O TA também contém frações de estroma vascular, os quais contém números metabolicamente relevantes de tipos celulares como pré-adipócitos, células endoteliais, células musculares lisas, fibroblastos, leucócitos e macrófagos. Adicionalmente, sabe-se que estas células presentes no estroma vascular podem produzir substancialmente maiores quantidades de TNF- $\alpha$  nos adipócitos (WEISBERG et al. 2003).

Weisberg et al. (2003) demonstraram que a obesidade também está associada com o aumento da infiltração dos macrófagos no tecido adiposo, sendo estes responsáveis pela elevada produção de TNF- $\alpha$ .

A vasta maioria da produção TNF- $\alpha$  advém classicamente dos macrófagos ativados, mas, é de grande interesse identificar onde ocorre o início da estimulação e recrutamento destas células imunes no tecido adiposo. Uma hipótese é que o aumento das mortes dos adipócitos pela expansão do tecido adiposo poderia induzir sinais quimiotáticos que iniciam o recrutamento de monócitos (WEISBERG, S. et al, 2003).

A indução da morte dos adipócitos pela expansão do TA presente em casos de sobrepeso ou obesidade crônica se justifica pelo fato de a capacidade de expansão deste tecido ser limitada. Entretanto, o próprio TNF- $\alpha$  secretado na presença de doenças inflamatórias como a obesidade pode estimular a produção de outras citocinas como IL-6 e IL-1 e desta forma, também promover a morte de células (RUAN et al, 2002).

O TNF- $\alpha$  também suprime a expressão de muitas proteínas como o receptor da insulina (IR), receptor do substrato 1 da insulina (IRS-1) e GLUT4, o que diminui a absorção da glicose pelo adipócito (RUAN et al, 2002).

Hotamisligil et al, (2006) demonstraram que o TA de ratos diabéticos obesos apresentaram altos níveis de TNF- $\alpha$ , confirmando a hipótese de que o mesmo apresenta papel relevante no desenvolvimento de doenças metabólicas associadas ao excesso de nutrição, tais como, resistência à insulina e diabetes tipo 2 relacionada à obesidade.

### **1.7 Interleucina 6 (IL-6)**

A IL-6 é uma citocina com atuação tanto na resposta imune inata como na adaptativa. Ela é sintetizada por monócitos, células endoteliais, fibroblastos e outras células em resposta a microrganismos e também à estimulação por outras citocinas, principalmente a IL-1 e TNF- $\alpha$  (SOUZA, et al, 2008).

A IL-6 normalmente é expressa em níveis baixos, exceto durante infecção, trauma ou outros fatores estressantes. Entre os vários fatores que regulam a expressão do gene da IL-6, estão o estrogênio e a testosterona. Após a menopausa ou andropausa, os níveis de IL-6 são elevados mesmo na ausência de infecção, trauma ou estresse

No TA, a IL-6 aumenta o processo de lipólise, aumentando dessa forma a mobilização de ácidos graxos livres na circulação. Em doenças como a obesidade os níveis de IL-6 estão aumentados, sendo esta adipocina um importante preditor de anormalidades no adipócito e metabolismo sistêmico (TRUJILLO et al, 2004).

### **1.8 Exercício Físico no controle da obesidade**

O Exercício físico é um importante componente no tratamento do sobrepeso e obesidade, pois promove melhora do status inflamatório através da perda de peso (ROSA et al 2009). Essa melhora parece estar relacionada com a intensidade do exercício, uma vez que exercícios extenuantes aumentam a resposta inflamatória, tendo como consequência o aumento dos marcadores inflamatórios no músculo esquelético e TA (ROSA et al 2011).

De acordo com Farias et al (2012), roedores submetidos a exercício de natação (2X30 minutos por dia, com 5 minutos de intervalo) 5 dias por semanas durante 12 semanas

consecutivas e dieta rica em gordura, tiveram o peso corporal reduzido em mais de 50% quando comparado ao grupo controle. Além disso, ocorreu aumento nos níveis de fosforilação do receptor de insulina IR, IRS e AKT no tecido adiposo e fígado, demonstrando, melhora nos parâmetros metabólicos que estão relacionados com o desenvolvimento da resistência à insulina e diabetes tipo 2.

Alguns estudos têm demonstrado as respostas adaptativas ao exercício aeróbico associado ao treinamento de força, como o aumento da ação da insulina no músculo esquelético, além de apresentarem benefícios referentes a composição corporal com redução da massa corporal, além da manutenção da massa magra (BERGGREN et al, 2008; SARTÓRIO et al, 2003; SARTÓRIO et al, 2005; CHRISTIANSEN et al, 2008).

Sartório et al. (2005), comparou homens e mulheres que realizavam exercícios físicos cinco dias por semana durante três semanas. Cada sessão consistia de treinamento aeróbico com 10 minutos de bicicleta ergométrica pedalando a 50-60 RPM, 20 minutos de caminhada em esteira com inclinação de 0-3% e cinco minutos de cicloergômetro de braço. A intensidade para todos os exercícios era de 50% do VO<sub>2</sub>máx durante a primeira semana e 60% nas outras duas. Foi observada a redução do IMC e melhora da força máxima em ambos os gêneros, mas nas mulheres houve manutenção da massa livre de gordura, as quais já apresentavam antes da intervenção maior índice de massa gorda quando comparadas aos homens.

Outro estudo que analisou o impacto de um programa de exercícios aeróbicos com a duração de 12 semanas sobre a frequência cardíaca e capacidade funcional de mulheres, também mostrou que houve melhora na modulação autônoma cardíaca e capacidade funcional com conseqüente busca de um balanço energético negativo, o que segundo autores estaria associado com maior condicionamento aeróbico e redução do desenvolvimento de morbidade cardiovascular (CASTELO, V. et al, 2011).

### **1.9 Treinamento resistido no controle da obesidade e inflamação**

O TR pode ser definido como sendo a modalidade de exercícios físicos regulares, sistematizados e controlados que envolvem a ativação voluntária de um grupo muscular agonista específico contra uma resistência externa (WINETT, R.A; CARPINELLI, R.N., 2001).

Inúmeros estudos demonstram que o TR pode afetar positivamente fatores de risco, tais como, resistência à insulina, taxa do metabolismo da glicose, pressão sanguínea, gordura corporal, os quais estão associados com diabetes, doenças cardiovasculares e câncer.

(SARTÓRIO, A et al, 2003; SARTÓRIO, A et al, 2005; PRESTES et al, 2010; STOTZER, U.S et al, 2015).

Além disso, o TR apresenta efeitos profundos no músculo esquelético e contribuí para a manutenção das habilidades funcionais prevenindo a osteoporose, sarcopenia, obesidade, entre outras doenças (WINETT, R.A; CARPINELLI, R.N., 2001).

Então, para ser efetivo é necessário que o TR seja realizado obedecendo alguns princípios, incluindo a consideração às necessidades específicas (princípio da individualidade), necessidade de variação do treinamento (princípio da sobrecarga crescente), especificidade na tarefa motora realizada (princípio da especificidade), adesão ao treinamento (princípio da continuidade) e regressão dos resultados obtidos (princípio da reversibilidade) (TUBINO, 1984; PRESTES et al, 2010).

De acordo com Roth, Ferrell and Hurlle (2000), o TR já é considerado uma intervenção preventiva para o desenvolvimento da osteoporose e sarcopenia pois, além de favorecer o aumento da densidade mineral óssea através do estresse mecânico, favorece também a manutenção da massa muscular através da carga progressiva que é imposta.

Considerando os recentes achados sobre a distribuição da gordura corporal, tendo em vista que a obesidade central é um importante componente para o desenvolvimento de uma série de eventos que podem resultar em resistência à insulina, dislipidemias, doenças cardiovasculares e câncer, o TR pode diminuir o risco para essas doenças através da modificação da composição corporal (WINETT, R.A.; CARPINELLI, R.N., 2001).

Além disso, a redução da adiposidade visceral favorece a instalação de um ambiente anti-inflamatório através do aumento dos níveis séricos de adiponectina, diminuição de leptina e PCR (proteína C reativa) (FATOUROS et al, 2005; AKBARPOUR, 2013).

Entretanto, de acordo com Phillips et al (2012), ocorreram diminuições nos níveis de citocinas pró-inflamatórias em mulheres pós-menopausadas obesas participantes de um programa de TR com duração de 12 semanas, mesmo na ausência de mudanças na composição corporal, o que demonstra que alterações benéficas podem ocorrer antes mesmo das mudanças observadas na composição corporal.

Segundo Ross e Colaboradores (1996), ocorreu redução de aproximadamente 40% na gordura visceral de homens obesos submetidos a TR e dieta hipocalórica. Ademais, envolvendo dieta hipercalórica e exercício físico aeróbico em ratos sobre os depósitos de gordura mesentérica e retroperitoneal mostrou que houve aumento da lipólise no adipócito mesentérico por cerca de (75%), o que não ocorreu no retroperitoneal (CHAPADOS et al, 2008). Entretanto, estudos envolvendo TR sobre esses depósitos ainda são escassos, sendo

necessários mais estudos que envolvam essa modalidade de exercício e seus efeitos, já que o TR mostrou-se eficaz em prevenir adiposidade abdominal e inflamação.

### **1.9.1 Reposição de estrogênio nas alterações promovidas pela ovariectomia**

A diminuição nos níveis de estrogênio em mulheres na pós-menopausa pode levar ao desenvolvimento de doenças crônicas, tais como osteoporose e doenças cardiovasculares.

Estrogênio é um termo usado para um grupo de hormônios esteroides com 18 carbonos, que são secretados principalmente pelo ovário e, em menor quantidade, pelas adrenais. Ele engloba três hormônios esteroides estruturalmente semelhantes:  $17\beta$ -estradiol (E2), estrona (E1) e estriol, (E3), sendo o E2 o principal esteroide em humanos que possui propriedades estrogênicas (KENDALL, B; ESRON, R, 2002).

Em modelos animais, tanto a falta quanto os defeitos na ação do estrogênio levam a aumento da massa corpórea, demonstrando claramente um possível papel desse esteroide no sobrepeso pós-menopausa. A OVX em ratas, condição que mimetiza a menopausa em mulheres, leva a diminuição dos níveis de estrogênio, causando dessa maneira, aumento do peso e massa gorda em ratas (SIMS et al., 1996). Corroborando com esses achados, a maioria dos estudos demonstrou aumento na gordura abdominal em mulheres durante a transição para a menopausa (CARR, M.C., 2003).

De acordo com Hong et al (2007), mulheres saudáveis na pós-menopausa apresentaram níveis de TNF- $\alpha$  significativamente maiores do que as na pré-menopausa, sugerindo que a deficiência de estrogênio resultaria no aumento de citocinas pró-inflamatórias, o que contribuiria para o desenvolvimento de doenças como aterosclerose e diabetes melito tipo 2.

Ensaio clínicos randomizados concluíram que os diversos tipos de reposição hormonal se mostraram eficientes na prevenção do aumento da adiposidade central em mulheres durante o período de pós-menopausa quando comparadas à mulheres do grupo controle, demonstrando que a deficiência de estrogênio parece acelerar o acúmulo de gordura visceral/abdominal e, por consequência, induz à mudanças significativas no padrão de distribuição da gordura corporal (KOHRT, W.M; EHSANI, A.A; BIRGE JR, S.J, 1998).

A maneira como a reposição de estrogênio é feita e qual via de administração é utilizada garante maior eficácia e segurança ao tratamento. A administração pode ser feita por via oral, transdérmica, intra-nasal ou intramuscular, sendo a reposição estrogênica via transdérmica considerada a mais segura quanto aos efeitos tromboembólicos quando comparada aos da via oral (ROZENBERG; VANDROMME; ANTOINE, 2013). Vários estrogênios são utilizados para tratar os sintomas do climatério, dentre eles, o estradiol, valerato de estradiol, estriol, succinato de estriol, estrogênios conjugados (ROZENBERG;

VANDROMME; ANTOINE, 2013; CARR, 2003). Os estrogênios frequentemente mais utilizados são valerato de estradiol natural ou 17 $\beta$ - estradiol micronizado e estrogênios equinos conjugados orais. Para os de via oral, a dose equipotente de 2 mg de valerato de estradiol corresponde a aproximadamente 1,5 mg de 17 $\beta$ -estradiol micronizado, 0,625 mg de estrogênios conjugados, 50 mg liberados por adesivo, 1,5 mg aplicados como gel percutâneo ou 3,0 mg através de administração nasal (KIRAN et al, 2004).

De acordo com Baylei et al (1980), a OVX em ratas promoveu aumento do peso corporal e massa gorda. Já a reposição hormonal (RH) foi eficaz em minimizar os efeitos causados pela OVX. Entretanto, quando se fala em Terapia de Reposição Hormonal (TRH) sempre existiu a preocupação com o risco aumentado para o desenvolvimento de tromboembolismo venoso e câncer de mama, principalmente quando a reposição hormonal é realizada por tempo prolongado (ROZENBERG; VANDROMME; ANTOINE, 2013; SKOUBY et al, 2004/2005).

PECHENINO et al, (2011) demonstraram que a administração de estrogênio muitos anos após a menopausa aumenta a expressão de genes inflamatórios como TNF- $\alpha$  e óxido nítrico sintase induzida (iNOs). Já a utilização de forma precoce logo após a menopausa previne estes efeitos negativos. Entretanto, o mecanismo envolvido nessa resposta não está totalmente elucidado.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Analisar os efeitos do Treinamento resistido (TR) e Reposição com estradiol (RE) sobre a glicemia, insulinemia e morfologia de adipócitos viscerais e intraperitoneais (mesentérico e retroperitoneal) de ratas ovariectomizadas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Verificar os efeitos do TR e da RE no tecido adiposo visceral e intraperitoneal (mesentérico e retroperitoneal) de ratas ovariectomizadas por meio das seguintes análises:

- Parâmetros Biométricos: Massa corporal, Ingestão alimentar e Peso dos tecidos;
- Carga de treino;
- Glicose e Insulina;
- Níveis de Estradiol;
- Histologia (área dos adipócitos): Depósito visceral e abdominal (mesentérico e retroperitoneal).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Aprovação do comitê de ética

Todos os procedimentos foram submetidos ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (protocolo n.005/2013) e conduzidos de acordo com o guia de cuidados e manuseio de animais laboratoriais dos Estados Unidos da América (*NATIONAL RESEARCH COUNCIL'S, 1996*).

#### 3.2 Animais

Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizadas 30 ratas Sprague Dawley, provenientes do biotério da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus de Araraquara, com massa corporal inicial de  $220 \pm 12$ g. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (três animais por gaiola), com o assoalho recoberto por serragem, e receberam água e ração *ad libitum*, sob condições constantes de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade e iluminação em ciclo invertido de 12 horas (início do escuro às 08:00hs). Após chegada ao biotério do laboratório de Fisiologia do Exercício, os animais permaneceram por três semanas em condição de aclimatação ao biotério e ao ciclo invertido. Após este período os animais foram distribuídos em cinco grupos experimentais.

#### 3.3 Grupos experimentais

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em 5 grupos experimentais (6 animais por grupo): (I) sham-sedentárias (Sham-SED), ovariectomizadas-sedentárias (Ovx-SED), sham- treinamento-resistido (Sham-TR), ovariectomizadas-treinamento-resistido (Ovx-TR), ovariectomizadas-sedentárias-reposição (Ovx-RE). Os animais sedentários (Sham-SED, Ovx-SED, Ovx-RE) foram mantidos em suas caixas por todo o período experimental pós-cirúrgico (12 semanas), sem nenhum tipo de exercício ou atividade física. Os animais Ovx (Ovx-SED, Ovx-TR e Ovx-RE) tiveram os ovários removidos. Os animais treinados (Sham-TR e Ovx-TR) realizaram 12 semanas de TR. O treinamento teve o mesmo início para cada grupo e está descrito abaixo. Os animais que realizaram reposição hormonal (Ovx-RE) receberam implantes subcutâneos de cápsulas silásticas contendo  $17 \beta$ -estradiol.

#### 3.4 Procedimentos Cirúrgicos da Ovariectomia e da operação Sham

Todos os procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram realizados por um médico veterinário. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados com as ratas sob efeito anestésico de Ketamina-Xilazina ( $61,5$ - $7,6$  mg/kg respectivamente) administrado na cavidade intraperitoneal. Para a ovariectomia foi realizada uma pequena incisão bilateral (1,0-1,5 cm)

através da pele e da camada muscular, entre a última costela e a coxa, em paralelo com a linha corporal média do animal. A cavidade peritoneal foi aberta e realizada uma ligadura abaixo da fimbria. Os ovários foram removidos e as incisões feitas na pele e músculos suturados. A cirurgia Sham foi realizada através dos mesmos procedimentos da ovariectomia, com exceção da ligadura abaixo da fimbria e da remoção dos ovários, os quais foram apenas expostos e devolvidos ao local de origem. Nas 24 horas seguintes da cirurgia Ovx e operação Sham foi utilizado Cloridrato de Tramadol, 20 mg/kg por via subcutânea para ação antibiótica a cada 24 horas durante cinco dias após os procedimentos cirúrgicos e as ratas foram mantidas em caixas individuais, tratadas com analgésico e aquecidas. Além disso, foi respeitado um período de sete dias de recuperação pós-cirurgia para dar início aos procedimentos do protocolo de treinamento resistido.

### **3.5 Reposição de Estrogênio**

Os animais do grupo Ovx-Sed-RE receberam a reposição de  $17\beta$ -estradiol por implante subcutâneo de cápsulas Silastic\*(Dow Corning, VWR Internacional, Buffalo Grove, IL, EUA) com uma solução de  $180\mu\text{g}$  de  $17\beta$ -estradiol/ml de óleo de girassol. As cápsulas Silastic\* são segmentos de tubo hospitalar de silicone cortados em comprimento de 30 mm, diâmetro interno de 1,02mm e externo de 2,16mm, vedados com cola Silastic\*. A RE teve início uma semana após a cirurgia OVX e o reimplante das cápsulas Silastic\* foi realizado após seis semanas do primeiro implante. A metodologia utilizada na RE foi descrita segundo Strom et al. Os tubos Silastic\* foram medidos e cortados com o auxílio de uma régua. A solução do hormônio foi preparada com  $17\beta$ -estradiol (código: E8875, 250 mg Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) em óleo de girassol. Foram pipetados  $10\mu\text{l}$  dessa solução em cada cápsula Silastic\* tendo cada animal recebido  $1,8\mu\text{g}$  de  $17\beta$ -estradiol. As cápsulas foram vedadas nas duas extremidades com cola de silicone da marca Silastic®, o que resultou em uma coluna de óleo- $17\beta$ -estradiol. Após a vedação das cápsulas, as mesmas foram armazenadas por 24 horas para secagem da cola. Após a secagem, foram mantidas em solução fisiológica salina esterilizada (NaCl 0,9%) por no mínimo 2 horas. Com o auxílio de uma pinça, a cápsula foi implantada no dorso do animal, através de uma incisão no dorso, que estava sob efeito anestésico (Ketamina-Xilazina). Posteriormente a inserção da cápsula foi realizada a sutura, e os animais receberam doses anestésicas de Cloridrato de Tramadol (20 mg/Kg) e antibiótico por via subcutânea, no período de recuperação (7 dias).



### 3.6 Protocolo de Escada – TREINAMENTO RESISTIDO

#### 3.6.1 Aparatos de treinamento

Para o treinamento foi utilizada uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degraus de 2 cm, inclinação de 80°) com uma gaiola de dimensões 20 x 20 x 20 cm. Foi utilizado tubo *falcon* com chumbada de pesca atado com fita adesiva à porção proximal a cauda das ratas como carga de carregamento (**Figura 1**).

**Figura 1.** Rata com o aparelho de carga fixado à calda na escada de treinamento.



#### 3.6.2 Familiarização ao Treinamento

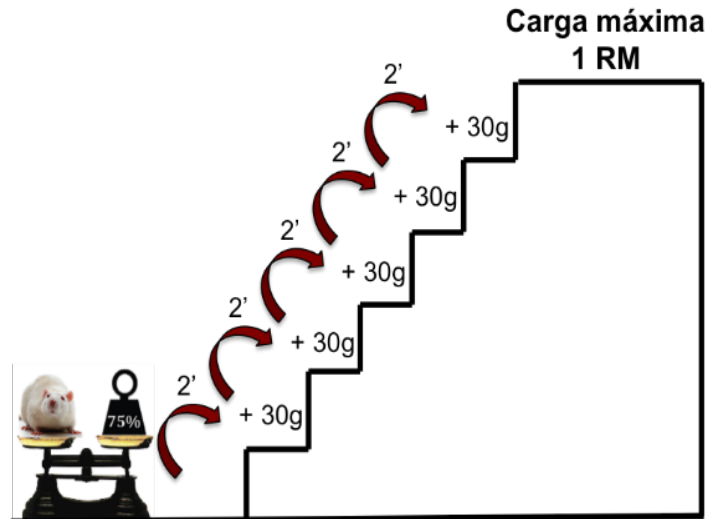
A familiarização ao treinamento foi realizada em 3 dias consecutivos. Com o aparato fixado a cauda, as ratas foram colocadas na parte inferior da escada e familiarizadas com a escalada. Caso necessário, um estímulo com dedos em movimento de pinçar foi aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento de escalada. As dimensões da escada obrigaram os animais a realizarem 8-12 movimentos por escalada. Atingindo a gaiola no topo da escada, as ratas descansaram durante 2 minutos entre uma escalada e a seguinte. Este procedimento se repetiu até que os animais escalassem voluntariamente a escada por três vezes consecutivas, sem a necessidade de estímulo.

#### 3.6.3 Determinação da Carga de Carregamento

Três dias após a familiarização, foi realizada a determinação da carga máxima de carregamento para qual a primeira escalada consistiu em carregar uma carga de 75% da

massa corporal do animal. Após 2 minutos de recuperação, a segunda escalada foi realizada com a adição de um peso de 30g, como demonstrado na figura 2. Este acréscimo de 30 g na carga foi repetido em cada escalada até uma carga com a qual a rata não conseguiu escalar toda a escada, mesmo após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga efetivamente carregada por toda a escada foi considerada a carga máxima de carregamento da rata.

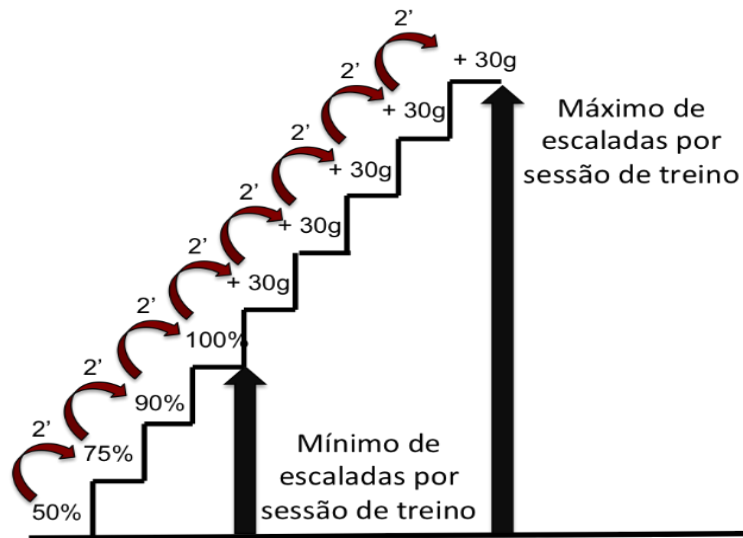
**Figura 2.** Determinação da carga máxima de carregamento



### 3.6.4 Sessões de Treinamento

Cada sessão de treino foi composta por um mínimo de quatro, e um máximo de nove escaladas. As quatro escaladas iniciais consistiram respectivamente de 50%, 75%, 90% e 100% da capacidade máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior. Após a quarta escalada foram realizadas um máximo de cinco escaladas e adicionou-se 30g de carga até que uma nova capacidade máxima de carregamento fosse determinada (Figura 3).

**Figura 3.** Organização da carga de carregamento por sessão de treino.



### 3.7 Eutanásia dos animais e coleta dos tecidos

Ao término do período experimental os animais ficaram em jejum durante a noite e foram eutanasiados pela manhã por decapitação em guilhotina. Os grupos que realizaram o treinamento resistido foram eutanasiados 48 horas após a última sessão de treino. Após a eutanásia, o tecido adiposo visceral mesentérico e retroperitoneal foram rapidamente removidos e pesados em balança de precisão. Após a pesagem eles foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer à  $-80^{\circ}\text{C}$  para futuras análises.

### 3.8 Determinação dos níveis de $17\beta$ - estradiol no soro

Para a determinação dos níveis de  $17\beta$ - estradiol, o sangue foi coletado após a eutanásia dos animais e o soro foi separado por meio de centrifugação (20 minutos, 13.000 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$ ). O sobrenadante foi coletado e armazenado na temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ . A dosagem de  $17\beta$ -estradiol foi realizada por ELISA de acordo com as especificações do fabricante (kit comercial, ADI-900-174, Enzo Life Sciences, Farmingdale, New York, USA). A sensibilidade do ensaio foi de 10 pg/mL. Todas as amostras foram realizadas em duplicata. A quantificação foi dada em relação à curva padrão com utilização do modelo de regressão não linear de quatro parâmetros logística (4PL).

### 3.9 Análises Histológicas

Para as análises histológicas as alíquotas do tecido adiposo visceral mesentérico e retroperitoneal foram fixados em formalina tamponada (10%) por 24 horas. Após fixação, os tecidos foram processados por meio de uma bateria de desidratação, em concentrações crescentes de etanol (80%, 95%, 100% I, 100% II, 100% III, 100% IV), diafanização em

banhos de xilol, impregnação, e por fim, inclusão em Paraplast (Histosec®Merck). O material parafinado foi incluído em blocos e permaneceu em temperatura ambiente. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo (Micron®HM360) com navalhas descartáveis. Os fragmentos com espessura de 6 µm foram estendidos sobre as lâminas.

Posteriormente, as lâminas passaram por processo de desparafinização em xilol, seguida de alcoolização em álcool etílico e hidratação em água destilada e por fim, foram coradas por hematoxilina e eosina (HE). Após coloração, os cortes foram desidratados em álcool e diafanizados em xilol, e em sequência, foi feita a montagem das lâminas utilizando o Permount (Fisher Scientific) para fixação da lamínula. Após a secagem, as lâminas foram digitalizadas por inteiras com ampliação de 40 x em “Scanner” Panoramic Desk da 3D Histech. Para avaliação e mensuração da área (µm<sup>2</sup>) dos adipócitos utilizou-se o software automático Image-Pro®-Plus 6.0.

### **3.10 Análise de Glicose**

A análise dos níveis de glicose no soro das ratas foi determinada pelo método glicose oxidase (Trinder, 1969). Foi utilizado um Kit comercial (Labtest Diagnostica AS, Brasil). Seguindo-se as instruções do fabricante os resultados desta análise se encontram expressos em mg/dl.

### **3.11 Análise de Insulina**

A análise dos níveis de Insulina no soro das ratas foi determinada através de um teste ELISA. Foi utilizado um Kit comercial Rat/Mouse Insulin Elisa (Millipore, USA). Seguindo-se as instruções do fabricante os resultados desta análise se encontram expressos em ng/dl.

### **3.12 Análise Estatística**

Os ensaios foram analisados quanto à sua significância estatística utilizando o programa de estatística SPSS para Macintosh versão 2017, adotando-se um nível de significância estatística de  $p \leq 0,05$ . Os valores para parâmetros biométricos (massa corporal, Ingestão alimentar, massa da gordura mesentérica e retroperitoneal, massa do útero e do fêmur) glicose, insulina e níveis de 17β estradiol apresentaram distribuição normal, por isso foi usada a análise de variância ANOVA one-way. O post hoc TUKEY foi aplicado no caso de alguma significância. Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média. Já os valores das áreas de adipócitos dos depósitos mesentérico e retroperitoneal apresentaram distribuição anormal, por isso foi usada a análise de variância KRUSKAL-WALLIS. Da

mesma forma o post hoc TUKEY foi aplicado no caso de alguma significância. Os dados foram expressos como mediana  $\pm$  erro padrão da mediana.

#### **4. RESULTADOS**

##### **4.1 Efeitos da Ovariectomia, treinamento resistido e reposição hormonal sobre parâmetros biométricos:**

Os animais do grupo Ovx-SED apresentaram maior peso corporal (23%;  $p \leq 0,05$ ), ingestão alimentar (11%;  $p \leq 0,05$ ) e massa dos depósitos de gordura retroperitoneal (52%;  $p \leq 0,05$ ) quando comparados aos animais do grupo Sham-SED (Tabela 1). Além disso, a ovariectomia promoveu diminuição na massa do fêmur e útero (11% e 83%  $p \leq 0,05$ , respectivamente) (Tabela 1). No entanto, nos animais do grupo Ovx-RE foi observado menor massa corporal (12%;  $p \leq 0,05$ ) e maior massa do fêmur e útero (13% e 481%  $p \leq 0,05$ , respectivamente) quando comparados aos animais do grupo Ovx-SED. Adicionalmente, os animais do grupo Sham-TR tiveram maior massa do fêmur (12%;  $p \leq 0,05$ ) e diminuição na massa dos depósitos de gordura mesentérica (43%;  $p \leq 0,05$ ) em relação aos animais do grupo Sham-SED. Além disso, os animais do grupo Ovx-TR, apresentaram menor massa corporal (6%;  $p \leq 0,05$ ) e massa dos depósitos de gordura retroperitoneal (35%;  $p \leq 0,05$ ) quando comparados aos animais do grupo Ovx-SED.

##### **4.2 Evolução da carga máxima de carregamento durante 12 semanas de treinamento.**

Durante as 12 semanas de treinamento, não houve interação entre os grupos e tempo, indicando que os grupos Sham-TR, Ovx-TR, aumentaram a capacidade máxima de carregamento de maneira similar durante o treinamento (Figura 3).

##### **4.3 Níveis de 17 $\beta$ estradiol no soro de ratas.**

Os animais dos grupos Ovx-SED, apresentaram níveis menores de 17 $\beta$ -estradiol quando comparados aos animais do grupo Sham-SED (55%;  $p \leq 0,05$ ) (Figura 2). Além disso, a ovariectomia promoveu diminuição nos níveis do hormônio nos animais do grupo Ovx-TR em relação aos animais do grupo Sham-TR (56%;  $p \leq 0,05$ ).

No entanto, foi observado maior concentração de 17- $\beta$ -estradiol nos animais do grupo Ovx-RE em relação aos animais do grupo Ovx-SED (180%;  $p \leq 0,05$ ).

Esses resultados mostram o sucesso da Ovariectomia e da reposição de estrogênio. Também foi detectada uma maior concentração de 17 $\beta$ -estradiol nos animais do grupo Ovx-RE em relação aos animais Sham-SED (24%;  $p \leq 0,05$ ).

Esses resultados demonstram que os animais que realizaram a reposição de estrogênio apresentaram uma concentração suprafisiológica de  $17\beta$  estradiol na circulação.

#### **4.4 Morfologia do tecido adiposo mesentérico**

Os animais do grupo Ovx-SED apresentaram aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) em relação aos grupos Sham-SED, Sham-TR e Ovx-TR (6%; 8,5% e 15% respectivamente;  $p \leq 0,05$ ) (Figura 4).

Esses resultados demonstram que a ovariectomia promoveu o aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) e o TR foi eficaz em minimizar os efeitos causados pela ovariectomia no tecido adiposo branco visceral (mesentérico) de ratas ovariectomizadas.

Além disso, os animais do grupo Ovx-RE apresentaram aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) em relação aos grupos Sham-SED, Sham-TR, Ovx-SED e Ovx-TR (35%; 37%; 32% e 42% respectivamente;  $p \leq 0,05$ ).

Esses resultados demonstram que a reposição de estrogênio não foi eficaz em minimizar os efeitos causados pela ovariectomia no tecido adiposo branco visceral (mesentérico) de ratas ovariectomizadas.

#### **4.5 Morfologia do tecido adiposo Retroperitoneal**

Os animais do grupo Ovx-SED apresentaram aumento no tamanho dos adipócitos (hipertrofia) em relação aos grupos Sham-SED, Sham-TR e Ovx-TR (14,2%; 14% e 10% respectivamente;  $p \leq 0,05$ ) (figura 5).

Esses resultados demonstram que a ovariectomia promoveu o aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) e o TR foi eficaz em minimizar os efeitos causados pela ovariectomia no tecido adiposo branco abdominal (Retroperitoneal) de ratas ovariectomizadas.

Além disso, os animais do grupo Ovx-RE apresentaram aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) em relação aos grupos Sham-SED, Sham-TR, Ovx-SED e Ovx-TR (15%; 14,6%; 0,8% e 10,5% respectivamente;  $p \leq 0,05$ ).

Esses resultados demonstram que a reposição de estrogênio não foi eficaz em minimizar os efeitos causados pela ovariectomia no tecido adiposo branco abdominal (retroperitoneal) de ratas ovariectomizadas.

#### **4.6 Níveis de glicose no soro de ratas**

Esses resultados demonstraram não haver diferenças significativas entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). (Figura 6).

#### **4.7 Níveis de insulina no soro de ratas**

Esses resultados demonstraram não haver diferenças significativas entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). (**Figura 7**).

**TABELA 1.**

**Tabela 1.** Efeitos da ovariectomia, treinamento resistido e reposição hormonal sobre parâmetros métricos.

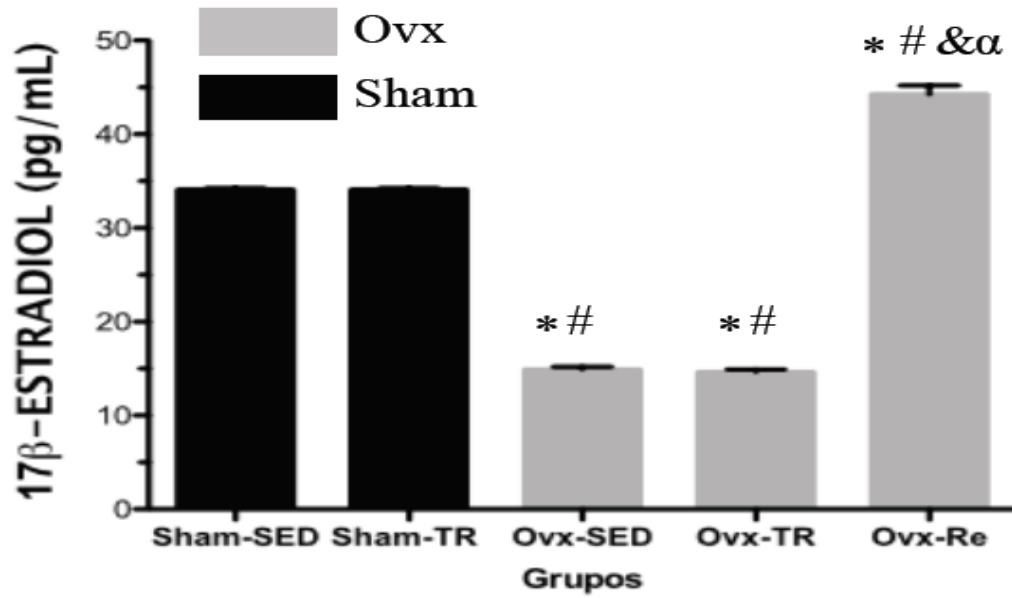
	<b>SHAM-SED</b>	<b>SHAM-TR</b>	<b>OVX-SED</b>	<b>OVX-TR</b>	<b>OVX-RE</b>
<b>Massa Corporal (g)</b>	301,94 ± 6,13&	324,71 ± 4,49&	372,10 ± 11,08*&	352,91 ± 11,36*α&	302,67 ± 13,46#&
<b>Ingestão Alimentar (g/d)</b>	21,05 ± 0,50	22,78 ± 0,58	23,39 ± 0,92*	23,25 ± 0,64*	22,28 ± 0,84
<b>Gordura Mesentérica (g)</b>	3,68 ± 0,28	2,10 ± 0,12*	3,14 ± 0,27α	3,38 ± 0,30α	3,51 ± 0,28α
<b>Gordura Retroperitoneal (g)</b>	2,97 ± 0,37	2,25 ± 0,15	4,54 ± 0,26*α	2,96 ± 0,55#	4,35 ± 0,49α&
<b>Massa do útero (g)</b>	0,67 ± 0,07	0,63 ± 0,05	0,11 ± 0,00*α	0,09 ± 0,0*α	0,64 ± 0,05#&
<b>Massa do fêmur (g/100gMC)</b>	0,26 ± 0,005	0,29 ± 0,004*#	0,23 ± 0,006*α	0,25 ± 0,010	0,26 ± 0,007#

Valores expressos em média ± erro padrão da média; n=6 ratas por grupo. MC indica Massa corporal.

\*, significativamente diferente de Sham-SED: ( $p \leq 0.05$ ); α, significativamente diferente de Sham-TR: ( $p \leq 0.05$ ); #, significativamente diferente de Ovx-SED: ( $p \leq 0.05$ ); \$, significativamente diferente de Ovx-TR: ( $p \leq 0.05$ ); &, significativamente diferente de Ovx-RE: ( $p \leq 0.05$ ).

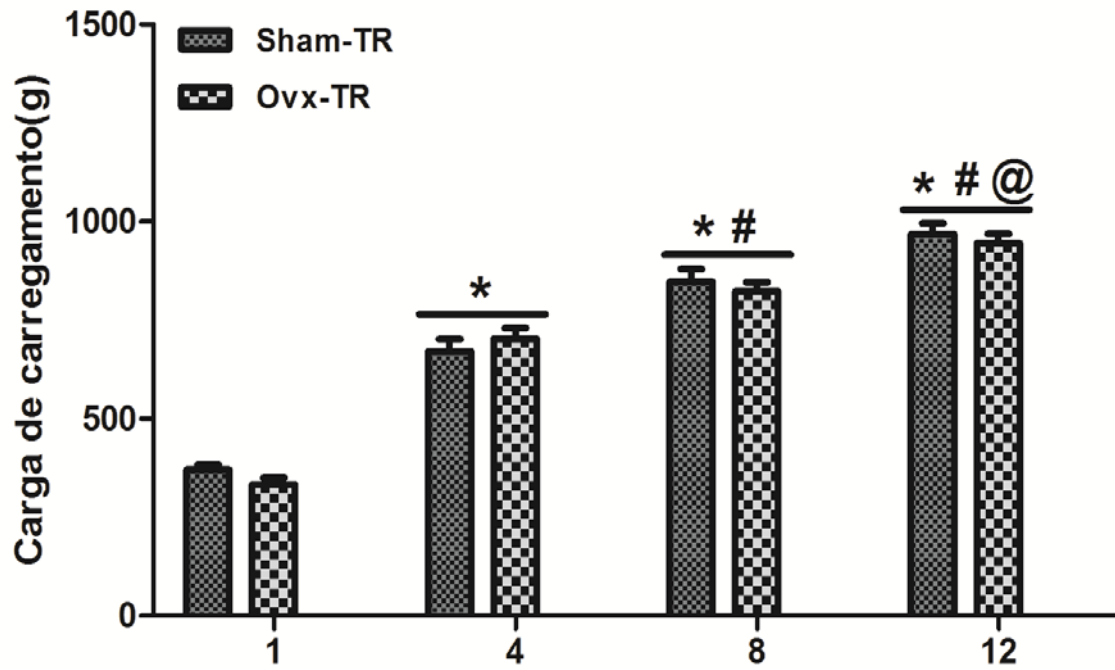


FIGURA 2.



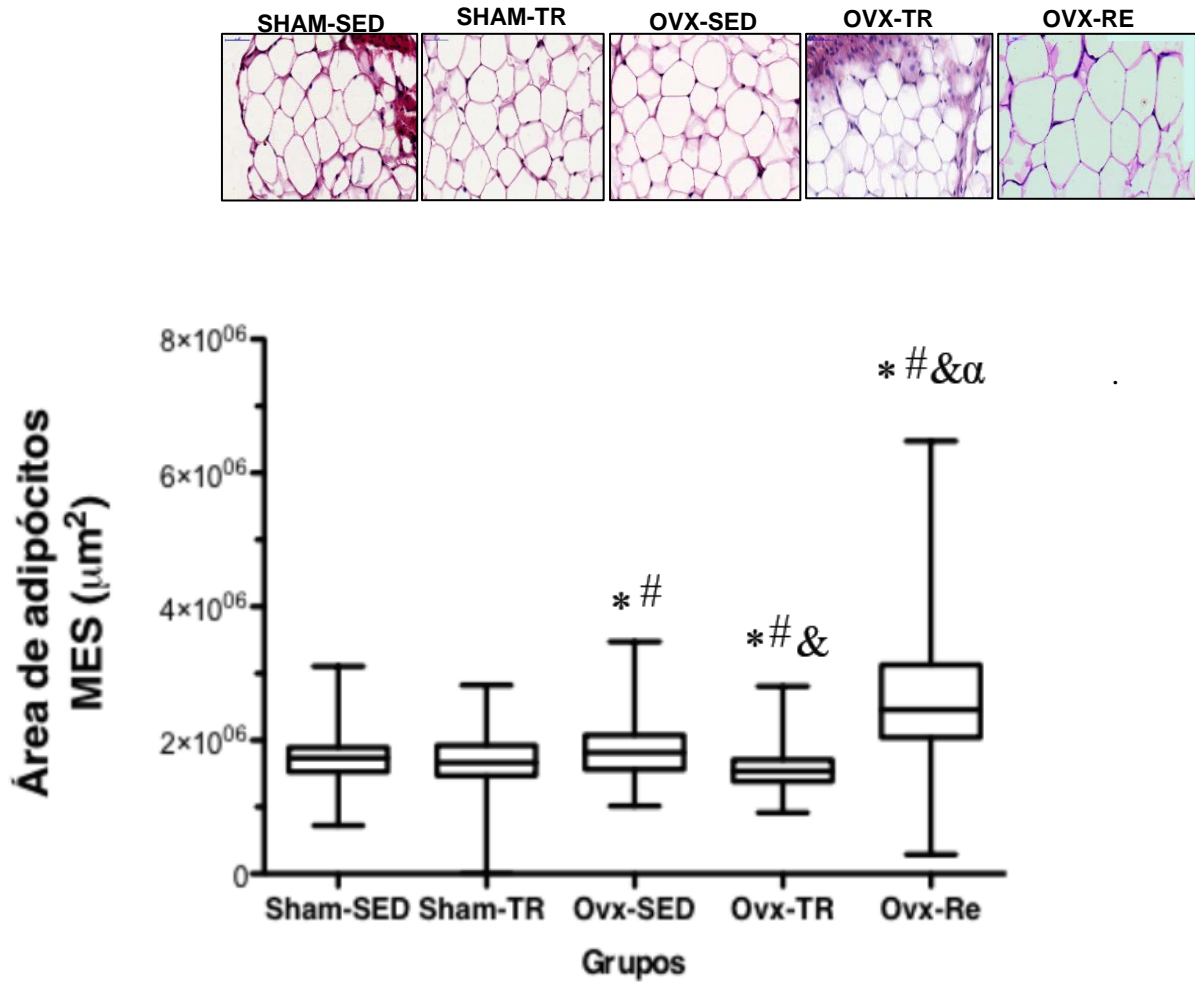
**FIGURA 2.** Concentração de 17β-estradiol no soro de ratas (pg/ml). Valores estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6 por grupo). \*, significativamente diferente de Sham-SED; #, significativamente diferente de Sham-TR; &, significativamente diferente de Ovx-SED;  $\alpha$  significativamente diferente de Ovx-TR ( $p \leq 0.05$ ).

FIGURA 3.



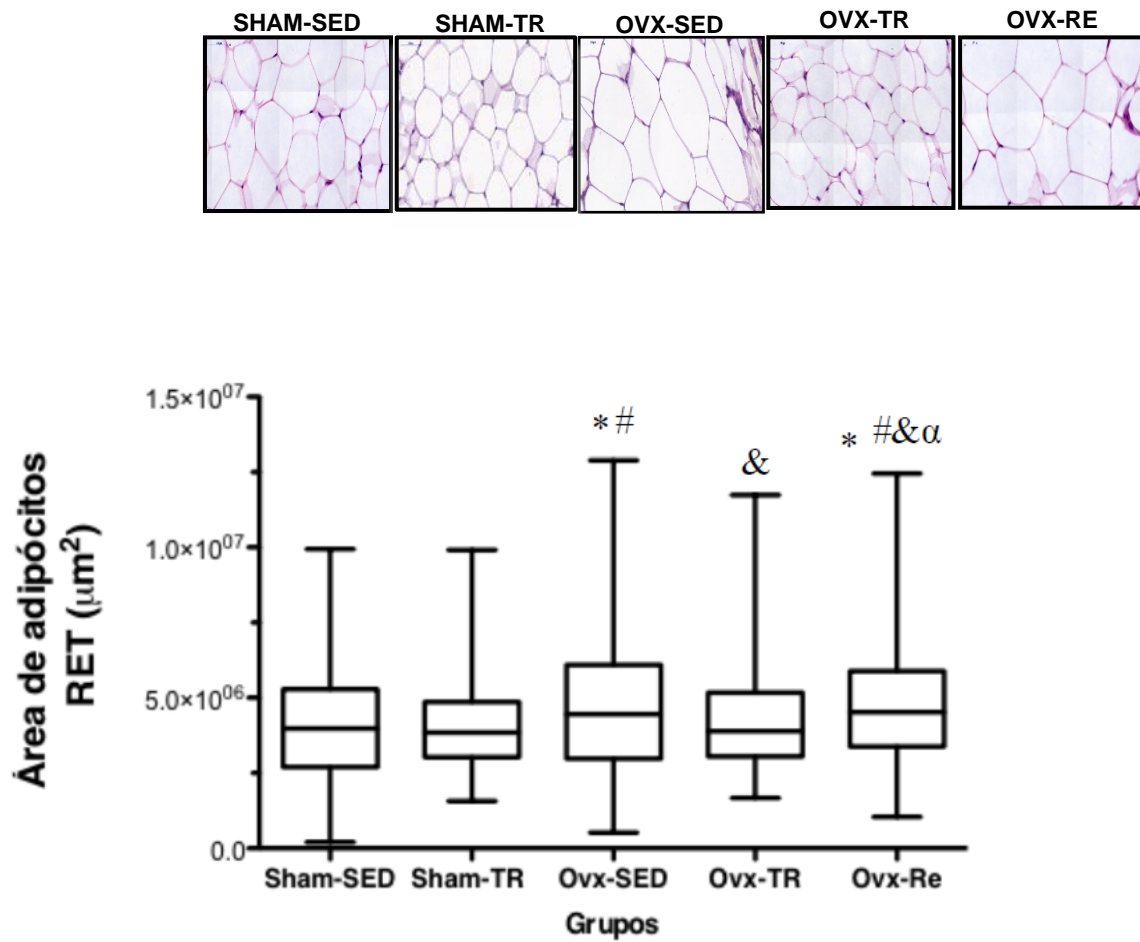
**FIGURA 3.** Carga máxima (g) dos grupos Sham-TR e Ovx-TR nas semanas 1, 4, 8 e 12. Os valores estão apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média; (n=6 por grupo). \*, significativamente diferente da semana 1; # significativamente diferente da semana 4 ( $p \leq 0,05$ ); \$ significativamente diferente da semana 8 ( $p \leq 0,05$ ).

FIGURA 4.

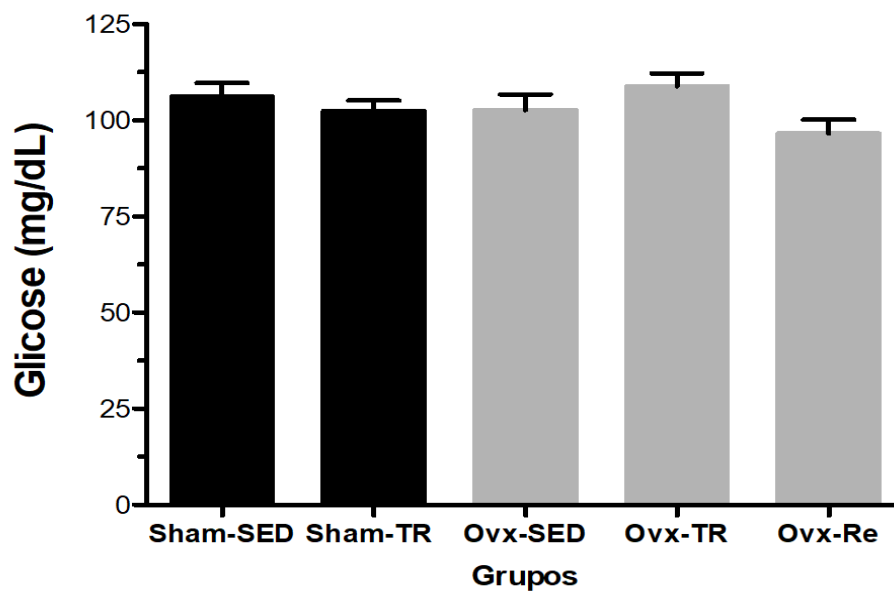


**FIGURA 4.** Morfologia do tecido adiposo (MES), (área dos adipócitos)  $\mu\text{m}^2$ . Valores estão apresentados em mediana  $\pm$  erro padrão da mediana (n=6 por grupo). \*, significativamente diferente de Sham-SED; #, significativamente diferente de Sham-TR; &, significativamente diferente de Ovx-SED;  $\alpha$ , significativamente diferente de Ovx-TR ( $p \leq 0.05$ ).

FIGURA 5.



**FIGURA 5.** Morfologia do tecido adiposo (RET), (área dos adipócitos)  $\mu\text{m}^2$ . Valores estão apresentados em mediana  $\pm$  erro padrão da mediana (n=6 por grupo). \*, significativamente diferente de Sham-SED; #, significativamente diferente de Sham-TR; &, significativamente diferente de Ovx-SED;  $\alpha$ , significativamente diferente de OVX-TR ( $p \leq 0.05$ ).

**FIGURA 6.**

**FIGURA 6.** Concentração de Glicose no soro de ratas (mg/dl). Valores estão apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média (n=6 por grupo). Não houve diferença significativa entre os grupos.

FIGURA 7.

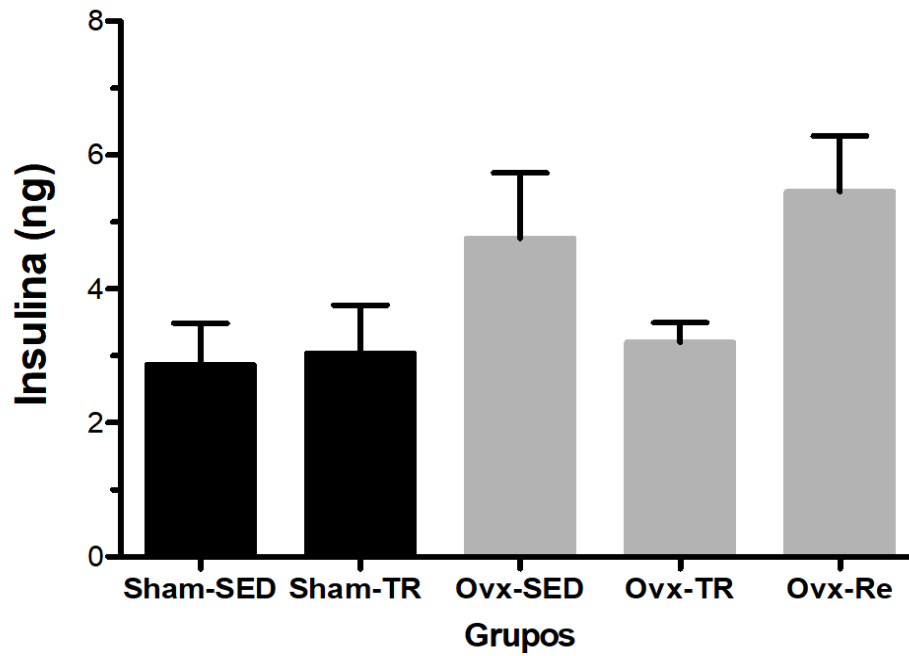


FIGURA 7. Concentração de Insulina no soro de ratas (ng/dl). Valores estão apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média (n=6 por grupo). Não houve diferença significativa entre os grupos.

## 5. DISCUSSÃO

A Ovariectomia (OVX) em ratas mimetiza a menopausa e resulta na diminuição dos níveis de estrógeno (SIMS et al., 1996).

A deficiência de estrógenos durante a menopausa acelera o ganho da massa corpórea, levando ao aumento da massa adiposa. Portanto, tanto a ausência quanto defeitos na ação do estrogênio causam aumento da massa corpórea, confirmando seu importante papel na regulação das vias metabólicas por meio de estudos com animais (HEINE et al, 2000; MUSATOV et al, 2007).

De acordo com dados do presente estudo, os níveis de 17  $\beta$ -estradiol, massa do útero e fêmur foram consideravelmente diminuídos nas ratas OVX, confirmando o sucesso da ovariectomia. Além disso, as ratas OVX apresentaram maior massa corporal e hipertrofia do adipócito nos depósitos mesentérico e retroperitoneal.

Nossos dados estão de acordo com Thernof et al (2004), demonstrando resultados similares através da condição de ovariectomia que, por sua vez, promoveu ganho de peso e aumento do tecido adiposo branco visceral.

Em outros estudos que corroboram os resultados encontrados neste estudo, observou-se redução na expressão de UCP2 no tecido adiposo branco de ratas ovariectomizadas, o que segundo autores poderia ser um dos fatores responsáveis pelo decréscimo no gasto energético e consequente aumento da massa corpórea em ratas ovariectomizadas (PEDERSEN et al, 2001).

De acordo com Stotzer U.S et al (2015), ocorreu supressão de ácidos graxos intra-abdominais de ratas ovariectomizadas com a utilização do mesmo protocolo de TR do presente estudo. Neste sentido, nossos dados estão em concordância com os do estudo acima citado, pois, o treinamento resistido foi eficiente em diminuir a massa corporal e a área dos adipócitos nos depósitos mesentérico e retroperitoneal dos animais do grupo OVX.

Adicionalmente, Speretta et al (2012), demonstrou menor expressão de TNF- $\alpha$  e menores áreas dos adipócitos dos depósitos (visceral e retroperitoneal) com um protocolo de TR que também foi utilizado em nosso estudo associado a dieta de alto teor de gordura quando comparado com um grupo submetido a exercícios de natação e dieta rica em gordura.

Uma das possíveis explicações para os resultados encontrados seria que o TR aumentaria a estimulação via sistema nervoso simpático, aumentando, dessa maneira, a lipólise nos ácidos graxos para o fornecimento de energia para os músculos e outros tecidos após o exercício, além de intervir de maneira benéfica na redistribuição do tecido adiposo corporal.

Com o aumento da massa corpórea ocorre a redistribuição do tecido gorduroso e como consequência aumento da adiposidade abdominal após a menopausa. Este aumento de adiposidade abdominal está relacionado com obesidade e outras patologias que predis põe o desenvolvimento de doenças metabólicas como resistência à insulina, diabetes melito, doenças cardiovasculares, entre outras (BINFA et al., 2001; CARVALHEIRA et al., 2006).

Segundo Shen e Colaboradores (2014), ratas OVX submetidas a dieta rica em gordura apresentaram resistência à insulina, porém, quando tratadas com terapia hormonal (estradiol) as mesmas apresentaram melhoras em marcadores relacionados a sensibilidade à insulina, ocasionando maior atividade da Akt. Assim, a diminuição dos níveis de estrogênio contribuiu para o desenvolvimento da resistência à insulina.

Entretanto, segundo dados do presente estudo, não observamos mudanças significativas nas concentrações de glicose e insulina no soro das ratas OVX.

Babaei et al (2010), demonstraram não haver alterações na glicose e insulina de ratas OVX quando comparadas ao grupo SHAM, sendo estes dados condizentes com os do nosso estudo. Adicionalmente a estes achados, Toth et al (2000), demonstraram que mulheres na pós-menopausa apresentam maior acúmulo de gordura corporal sem apresentar diferenças em marcadores de sensibilidade à insulina.

A sensibilidade à insulina depende da transcrição de vários genes relacionados com a via de sinalização de insulina em diversos tecidos alvos e da interação desses tecidos em respostas aos diferentes fatores ambientais como por exemplo mutações que alteram essa sensibilidade à insulina bem como tecido estudado, linhagem do rato e método utilizado para analisar a resistência à insulina (DOMINICI, TURYN, 2002).

Além disso, este estudo demonstrou que a reposição estradiol (RE) não atenuou o aumento da área dos adipócitos nos depósitos mesentérico e retroperitoneal dos animais OVX. Adicionalmente, o aumento na área dos adipócitos destes depósitos já citados a cima foi encontrado nestes animais tratados com RE.

Uma das possíveis explicações para estes resultados seria que a reimplantação da cápsula com estradiol teria causado um forte estímulo e conseqüentemente ativação de fatores anabólicos, os quais poderiam justificar a hipertrofia dessas células nos animais OVX tratados com RE e discordância com a literatura.



## **6. CONCLUSÃO**

Em Conclusão, a ovariectomia aumentou a massa corporal, ingestão alimentar, depósitos de gordura e área dos adipócitos mesentéricos e retroperitoneais, entretanto, não alterou a carga de carregamento, glicemia e insulinemia.

Já as ratas OVX submetidas a 12 semanas de TR apresentaram menor massa corporal e área de adipócitos viscerais nos depósitos mesentérico e retroperitoneal.

Além disso, mostramos que a reposição com estradiol utilizada em nosso estudo, promoveu alterações do tamanho do adipócito que precisam ser melhores elucidadas. Adicionalmente, estudos futuros terão como objetivo investigar se a OVX levaria a inflamação do TA visceral desses animais e se a RE e o TR melhorariam a inflamação do mesmo.

## **7. FUTURAS INVESTIGAÇÕES**

Quantificação de citocinas anti-inflamatórias (Adiponectina) e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL6) por ensaio multiplex/Luminex.

## 8. REFERÊNCIAS

- AHIMA, R.S; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab.**11: 327-332, 2000.
- AHMADIZAD, S.; HAGHIGHI, A. H.; HAMEDINIA, M. R. Effects of resistance versus endurance training on serum adiponectin and insulin resistance index. **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 157, n. 5, p. 625-631, 2007.
- ALBU, J. B.; KOVERA, A.J.; JOHNSON, J.A. Fat distribution and health in obesity. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, New York, v. 904, p. 491-501, 2000.
- ANDERSON, P. J. et al. Factor analysis of the metabolic syndrome: obesity vs insulin resistance as the central abnormality. **Int. J. Obes.**, London, v. 25, p. 1782-1788, 2001.
- AKBARPOUR, M. The Effect of Resistance Training on Serum Levels of Adipokine and Inflammatory Markers of Cardiovascular Disease in Obese Men, [in Persian]. **Qom Univ Med Sci**, v: 7, n. 3, p.1-10, 2013.
- BABAEI, P. et al. Effects of ovariectomy and estrogen replacement therapy on visceral adipose tissue and serum adiponectin levels in rats. **Menopause Int.** v. 16, p. 100-104, 2010.
- BERGGREN, J; BOYLE, K; CHAPMAN, W; HOUMARD, J. Skeletal muscle lipid oxidation and obesity: influence of weight loss and exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metab** v. 294, n. 726. p. 34, 2008.
- BINFA, E.L; BLUMELL, M.J.H. Obesidad, estrógenos y salud de la mujer. **Rev. CHILL Obstet Ginecol.** V. 4, n. 66, p. 340-346, 2001.
- BOUCHARD, C; DESPRÉS, J P; MAURIÈGE, P. Genetic and nongenetic determinants of regional fat distribution. **Endocr. Rev.**, Baltimore, v. 14, n. 1, p. 7293, 1993.
- BLÜHER, M. et al. Circulating adiponectin and expression of adiponectin receptors in human skeletal muscle: associations with metabolic parameters and insulin resistance and regulation by physical training. **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, Springfield, v. 91, n. 6, p. 2310-2316, 2006.
- CARR, M.C. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. **J Clin Endocrinol Metab.** v.88, n. 6, 2404-2411, 2003. CARVALHEIRA, J.B.C; SAAD, M.J.A. Doenças associadas a resistência à insulina/hyperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metabolism.** v. 2, n.50, p. 360-367.
- CASTELO, V. et al. Impact of aerobic exercise training on heart rate variability and functional capacity in obese women after gastric bypass surgery. **Obes Surg.** v. 21, p. 1739-1749, 2011.
- CHAPADOS, N et al. Exercise training decreases in vitro stimulated lipolysis in a visceral (mesenteric) but not in the retroperitoneal fat depot of high-fat-fed rats. **British Journal of Nutrition.** v. 100, p.518-525, 2008.
- CINTI, S. The adipose Organ. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acidis. v.73, n.19-15, 2005.

CINTI, S. The Adipose Organ at a glance. **Dis Model Mech.** v. 5, n.5 p. 588-594, 2012.

CHRISTIANSEN, T; BRUUN, J; MADSEN, E; Richelsen B. Weight loss maintenance in severely obese adults after an intensive lifestyle intervention: 2-to4 year follow-up. **Obesity.** n.15: p. 413-420, 2008.

CONWAY, B., RENE, A. Obesity as a disease: no light weight matter. **Obes Rev.** (s.l.) v.5, p.145-151, 2004. Disponível em:<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

CNOP, M. et al. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations. **Diabetes,** New York, v. 51, p. 1005-1015, 2002.

DEPRÉS, J.P. Health consequences of visceral obesity. **Ann. Med.,** Oxford, v. 33, n. 8, p. 534-541, 2001.

DIMITRIADIS G, MITROU P, LAMBADIARI V, MARATOU E, RAPTIS SA. Insulin effects in muscle and adipose tissue. **Diabetes Res Clin Pract.** 93 Suppl 1:S52-9, 2011.

DOMINICI, F.P, TURYN, D. Growth hormone-induced alterations in the insulin signaling system. **Exp Biol Med.** v. 227, p. 149-157, 2002.

DUCLUZEAU, P.H. et al. Molecular mechanisms of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. **Diabetes Metab.** v. 28, n. 2, p. 85-92, 2002.

ERSHLER WB, KELLER ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **Annu Rev Med.** v.51, p. 245-270, 2000.

FARIAS, J.M. et al. Exercise training performed simultaneously to a high-fat diet reduces the degree of insulin resistance and improves adiponectin/APPL1 protein levels in mice. **Lipids in health and Disease.** p. 02-09, 2012.

FATOUROS, I.G. et al. Leptin and adiponectin responses in overweight inactive elderly following resistance training and detraining are intensity related. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 90 n.11, p.5970-5977, 2005.

FEINGOLD, K.R, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **J Lipid res.** v.45, n.6 p. 1169-1196, 2004.

FONSECA-ALANIZ MH, TAKADA J, ALONSO-VALE MIC, LIMA FB. The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.50, p. 216-229, 2006.

GIL, A. et al. Is adipose tissue metabolically different at different sites? **Int J Pediatr Obes.** v.6 n.1, p.13-20, 2011.

HARA, T. et al. Body composition is related to increase in plasma adiponectin levels rather than training in young obese men. **European Journal of Applied Physiology,** Berlin, v. 94, n. 5-6, p. 520-526, 2005.

- HEINE, P.A. et al. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor  $\alpha$  knockout mice. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 97, n. 23, p.12729-12734, 2000.
- HONG, S.C. et al. Correlation between estrogens and serum adipocytokines in premenopausal and postmenopausal women. **Menopause**. v.14, n.5, p. 835-840, 2007.
- HOU, J.C, PESSIN, J.E. The Ins (endocytosis) and Outs (exocytosis) of GLUT4 Trafficking. **Curr Opin Cell Biol**. v. 19, n.4, p. 466-473, 2007.
- HOTAMISLINGIL, G.S, SHARGILL, N.S, SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science** v. 259, p. 87-91, 1993.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa Nacional por amostra de domicílio: Síntese de indicadores 2004**. Rio de Janeiro, 2005.
- KENDALL, B; ESRON, R. Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. **Sports Med**. v.32, n.2, p.103-123, 2002.
- KOVRT, W.M, EHSANI, A.A, BIRGE JR, S.J. HRT preserves increases in bone mineral density and reductions in body fat after a supervised exercise program. **J Appl Physiol**. v.84, n.5, p.1506-1512, 1998.
- KOLOTKIN, R.L. et al. Development of a brief measure to assess quality of life in obesity. **Obes Res**, v. 9, n.2, p.102-111, 2001.
- KHOVIDHUNKIT, W; KIM, M.S; MEMON, R.A; SHIGENAGA, J.K; MOSER, A.H;
- KUMAR, R. et al. The dynamics of acute inflammation. **J Theo Biol**. v. 230, p.145-155, 2004.
- LAHOZA, C; MOSTAZAA, J.M. Atherosclerosis as a systemic disease. **Rev Esp Cardiol**.v.60 p.184-195, 2007.
- MARTI A, MARCO A, MARTINEZ J. Obesity and immune function relationship. **Obs Rev**.v.2 p. 131-140, 2001.
- MONTEIO C.A, D’A BENICIO M.H, CONDE W. L, POPKIN B.M. Shifting obesity trends in Brazil. **Eur J Clin Nutr**. v. 54 n.4 p. 342 – 346, 2000.
- MUSATOV, S. et al. Silencing of estrogen receptor  $\alpha$  in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. **Proc Natl Acad Sci USA**. v.104, n.7, p. 2501-2506, 2007.
- NEELS J.G, OLEFSKY J.M. Inflamed fat: what starts the fire? **J Clin Invest**. v.116 n.1 p.33-35, 2006.
- NEVES-E-CASTRO, M. Climatério e Menopausa. **Atualização Clínica em Endocrinologia, Diabetes e Obesidade**. Portugal, 2009, vol. 3, n. 2, p. 67-83.
- PEDERSEN, S.B. et al. Regulation of UCP1, UCP2, and UCP3 m RNA expression in brown adipose tissue, white adipose tissue, and skeletal muscle in rats by estrogen. **Biochem Biophys Res Commun**. v.288, n.1, p.191-197, 2001.

- PECHENINO, A.S. et al. Impact of aging versus estrogen loss on cardiac gene expression: estrogen replacement and inflammation. **Physiological Genomics**, v. 43, p.1065-1073, 2011.
- PETERSEN, A.M.W, PEDERSEN, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol**. v. 98, p. 1154-1162, 2005.
- PRESTES, J. et al. Prescrição e periodização do treinamento de força em academias. Barueri, SP: Manole, 2010.
- PHILLIPS, M.D. et al. Resistance training reduces subclinical inflammation in obese, postmenopausal women. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, p. 2099-3110, 2012.
- ROSS, R.J. et al. Influence of diet and exercise on skeletal muscle and visceral adipose tissue in mem. **J Appl Physiol**, v. 81, p. 2445-2455, 1996.
- RUAN, H. et al. Tumor necrosis factor alpha suppresses adipocyte-specific genes and activates expression. Of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: Nuclear factor-Kappa B activation by TNF- alpha is obligatory. **Diabetes** v. 51, p.1319-1336, 2002.
- SARTÓRIO, A. et al. Effects of a 3week integrated body weight reduction program on leptin and body composition in severe obese subjects. **J Endocrinol Invest**.v.26, p.250-256, 2003.
- SARTÓRIO, A. et al. Gender-related changes in body composition, muscle strength and power output after a short-term multidisciplinary weight loss intervention in morbid obesity. **J Endocrinol Invest**. v. 28, p. 494-501, 2005.
- SIMPSON, K. A.; SINGH, M. A. F. Effects of exercise on adiponectin: A systematic review. **Obesity**, Silver Spring, v. 16, n.2, p. 241-256, 2008.
- SIMS, N.A., MORRIS, H.A., MOORE, R.J., DURBRIDGE, T.C. Estradiol treatment transiently increases trabecular bone. Ovariectomized rats, **Bone**. v.13, n. 5, p. 455-461, 1996.
- SOUZA, J.R.M. et al. Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína-C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnivelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arq Bras Cardiol**. v. 90, n. 2, p.94-99, 2008.
- SPERETTA, G.F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**. São Paulo, v. 67, n.12, p. 1469-1477, 2012.
- SHEN, M., KUMAR, S.P.D.F., SHI, H. Estradiol regulates insulin signaling and inflammation in adipose tissue. **Horm Mol Biol Clin Investig**. v. 17, p. 99-107, 2014.
- STOTZER, U.S. et al. Resistance Training Suppresses Intra-abdominal Fatty Acid Synthesis in Ovariectomized Rats. **International Journal of Sports Medicine**. v. 36 n.3, p. 226-233, 2015.
- STROM, J.O, THEODORSSON, E, THEODORSSON, A. Order of magnitude differences between methods for maintaining physiological 17 $\beta$ -oestradiol concentrations in ovariectomized rats. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 68 (8), p. 814-822, 2008.
- TOTH, M.J., TCHERNOF, A., SITES, C.K., POEHLMAN, E.T. Effect of menopausal status on body composition and abdominal fat distribution. **Int J Obes**. v. 24, p. 226-231, 2000.

- TUBINO, M.J.G. **Metodologia científica do treinamento desportivo**. São Paulo: Ed. Ibrasa, 1984.
- TRUJILLO, M.E. et al. Interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production in vitro. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, p.5577-5582, 2004.
- VEGA, G.L. Obesity, the metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **Am. Heart J.**, London, v.142, p. 1108-1116, 2001.
- WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr. Rev.**, Baltimore, v. 21, n. 6, p. 697-738, 2000.
- WATSON, R.T; PESSIN, J.E. Subcellular compartmentalization and trafficking of the insulin-responsive glucose transporter, GLUT4. **Exp Cell Res**. v. 271, p. 75-83, 2001.
- WEISBERG, S. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J. Clin Invest**. v. 112, p. 1796-1808, 2003.
- WINETT, R.A; CARPINELLI, R.N. Potential health-related benefits of resistance training. **Preventive Medicine**. New York, v.33, p. 503-513, 2001.
- WOOD I.S, DE HEREDIA F.P, WANG B, TRAYHUM P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. **Proc Nutr Soc**. v. 68, n. 4, p. 370-377, 2009.
- ZYEDA, M; STULING, T.M. Obesity, inflammation, and insulin resistance--a mini-review. **Gerontology**. v. 55, n.4, p. 379-386, 2009.

