

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

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO E DA DIETA  
HIPERLIPÍDICA SOBRE O TECIDO ADIPOSEO, PERFIL LIPÍDICO E  
RECEPTOR CB1 DO SISTEMA ENDOCANABINÓIDE.**

**MARISA CRISTINA ROSANTE**

**SÃO CARLOS  
2011**

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

**MARISA CRISTINA ROSANTE**

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO E DA DIETA  
HIPERLIPÍDICA SOBRE O TECIDO ADIPOSO, PERFIL LIPÍDICO E  
RECEPTOR CB1 DO SISTEMA ENDOCANABINÓIDE.**

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas (PIPGCF – UFSCar/UNESP) 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.

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

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda de Oliveira Duarte**

**SÃO CARLOS  
2011**

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

R788id

Rosante, Marisa Cristina.

Influência de diferentes protocolos de exercício e da dieta hiperlipídica sobre o tecido adiposo, perfil lipídico e receptor CB1 do sistema endocanabinóide / Marisa Cristina Rosante. -- São Carlos : UFSCar, 2011. 68 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Fisiologia humana. 2. Obesidade. 3. Exercícios físicos. 4. Receptor CB1. 5. Sistema endocanabinóide. 6. Tecido adiposo. I. Título.

CDD: 612 (20<sup>a</sup>)

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

Folha de Aprovação

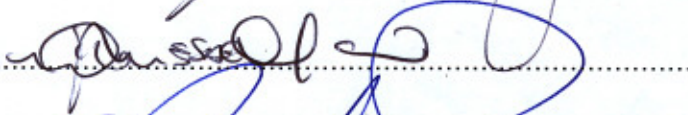
Dissertação de Mestrado de Marisa Cristina Rosante

Dia 20/10/2011

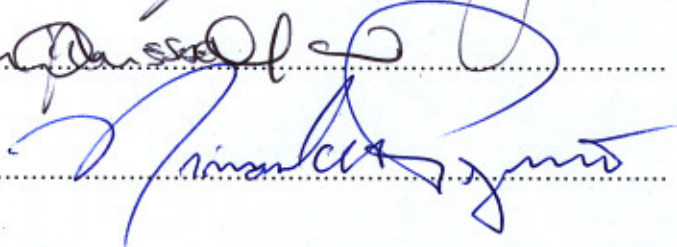
Profª. Drª. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte.....



Profª. Drª. Lila Missae Oyama.....



Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto.....



## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Maria e Braz por existirem na minha vida.

À minha orientadora, Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte, pela oportunidade de realizar o mestrado e pela confiança na realização deste trabalho.

À minha coorientadora, Fernanda Duarte, pela ajuda, pelo conhecimento transmitido, pela paciência e principalmente por tornar possível a realização de importantes análises deste estudo.

À professora Heloísa Sobreiro Selistre de Araújo, do Laboratório de Biologia Molecular, pela parceria na realização de análises.

Agradecimento especial ao meu colega de mestrado Guilherme Speretta pelo companheirismo, amizade, paciência e dedicação, deste o início deste trabalho até hoje, por todas as horas que precisei de sua ajuda.

Agradecimento especial ao meu amigo, colega de laboratório e ex-companheiro de república Rafael Arquias, por me ajudar todos os dias a colocar os ratinhos para nadar e carregar os tanques de água...rsrsr!

Aos meus colegas de Laboratório João Guilherme, Marcela, Anderson, Toninho, Adriana, Rogério, Luana, Thaís, Melina e Isabel pela ajuda nos experimentos, convivência e amizade. Ao nosso técnico José Alves da Silva pela ajuda nos experimentos e por achar tudo o que eu precisava no laboratório.

Às meninas do laboratório de Biologia Molecular: Patrícia, Kelly, Rita, e Uliana e as técnicas Beth e Natália, por me ensinarem as técnicas e os procedimentos do laboratório.

A todos os amigos e pessoas que não participaram diretamente deste trabalho, mas que me ajudaram com incentivo, apoio e compreensão.

E claro, ao meu namorado Junior pela paciência inteligente, muito obrigada!  
Te amo!

**MUITO OBRIGADA!!**

“O conhecimento mais extraordinário, o maior que se pode possuir, é, primordial e fundamentalmente, o conhecimento dessa criatura humana que é o próprio ser.”

**Carlos Bernardo González Pecotche**

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação e força sobre o tecido adiposo, perfil lipídico e sistema endocanabinóide de ratos obesos. Para isso, utilizamos sessenta ratos adultos machos divididos em seis grupos: Sedentário Padrão (SP); Sedentário Hiperlipídico (SH); Natação Padrão (NP); Natação Hiperlipídica (NH); Força Padrão (FP); Força Hiperlipídica (FH). Após três semanas recebendo dieta padrão ou hiperlipídica, os animais iniciaram os protocolos de exercício. Os grupos NP e NH nadaram 60 minutos por dia, 5 dias na semana com uma carga de 5% do peso corporal atada ao corpo, em tanques de 50 cm de altura e 30 cm de diâmetro, durante 8 semanas. Os grupos FP e FH realizaram exercício de subida em escada com pesos atados às suas caudas, uma vez a cada três dias, durante 8 semanas. Os animais dos grupos SP e SH continuaram sedentários e alimentados com suas respectivas dietas. Após esse período todos os animais foram sacrificados por decapitação, e os tecidos dissecados, pesados e imediatamente congelado a -80°C. A dieta hiperlipídica aumentou o ganho de massa corporal, peso relativo dos tecidos adiposos (epididimal, retroperitoneal, visceral e subcutâneo) e área de adipócitos (epididimal, retroperitoneal e visceral). Também aumentou o percentual de gordura de todos os tecidos adiposos e fígado, além de aumentar a expressão gênica do receptor CB1. Os grupos treinados, tanto em força quanto em natação, apresentaram menores valores de área de adipócitos, melhora do perfil lipídico, menores valores no percentual de gordura dos tecidos adiposos e fígado, menores ganhos de massa corporal, além de menores valores de expressão gênica para o receptor CB1. Assim nossos resultados indicam os potenciais benefícios do treinamento força e natação, como alternativas não farmacológicas para controlar os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica sobre o tecido adiposo, perfil lipídico, conteúdo lipídico dos tecidos e controle do desequilíbrio do sistema endocanabinóide provocado pela dieta hiperlipídica.

**Palavras-chave:** obesidade; treinamento de força; natação; receptor CB1; sistema endocanabinóide; PPAR $\gamma$ ; tecido adiposo; perfil lipídico.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of high-fat diet and swimming and resistance training in the adipose tissue, endocannabinoid system and lipid profile in obese rats. Wistar adult male rats were divided into 6 groups (n = 10 per group): sedentary chow diet (SP); sedentary high-fat diet (SH); swimming chow diet (NP); swimming high-fat diet (NH); resistance training chow diet (FP); resistance training high-fat diet (FH). After three weeks feeding on a chow diet or high-fat diet, the animals started the exercise protocols. The NP and NH groups swam 60 minutes/day, five days a week, with a constant overload of 5% body weight during 8 weeks in tanks of 50 cm of height and 30 cm of diameter, for 8 weeks. The groups FP and FH started the resistance training with weights tied to their tails, once every three days for 8 weeks. The animals of SP and HS groups remained sedentary and fed their respective diets. After this period all animals were sacrificed by decapitation and tissues dissected, weighed and immediately stored at -80 ° C. High-fat diet increased body weight gain, relative weight of adipose tissues (epididymal, retroperitoneal, visceral and subcutaneous) and adipose tissue area (epididymal, retroperitoneal and visceral). It also increased the fat percentage of all adipose tissues and liver, and increased gene expression of CB1 receptor. The trained groups, both resistance training and swimming, presented lower values of adipocyte area, benefits in lipid profile, lower percentage of fat in the adipose tissue and liver, lower body weight gain, and lower values for gene expression the CB1 receptor. Thus our results indicate the potential benefits of the resistance training and swimming as non pharmacological alternatives to control the deleterious effects of high-fat diet on adipose tissue, lipid profile, lipid content of tissues and control of the endocannabinoid system imbalance caused by high-fat diet.

**Key words:** obesity, resistance training, swimming, receptor CB1, endocannabinoid system, PPAR $\gamma$ , adipose tissue, lipid profile.



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

|               |  |
|---------------|--|
| AGL           | Ácidos graxos livres   |
| AMPK          | Proteína quinase ativada por monofostato de adenosina                |
| SUB           | Tecido adiposo subcutâneo  |
| CB1           | Receptor canabinóide 1   |
| CB2           | Receptor canabinóide 2   |
| CRH           | Corticotropin Releasing Hormone                                      |
| CART          | Cocaine-Amphetamine Related Transcript                               |
| DAG Lipase    | sn-1–selective diacylglycerol lipase                                 |
| DNA           | Ácido desoxirribonucléico  |
| EA            | Eficiência alimentar   |
| EPI           | Tecido adiposo epididimal  |
| ECB           | Endocannabinóides  |
| FAAH          | Fatty acid amide hydrolase   |
| FP            | Força Padrão   |
| FH            | Força Hiperlipídica  |
| GAPDH         | Gliceraldeído fosfato desidrogenase                                  |
| HDL           | Lipoproteína de alta densidade                                       |
| IMC           | Índice de massa corporal   |
| MAG Lipase    | monoacylglycerol lípase  |
| MCH           | Melanin Concentrating Hormone  |
| NAPE-PLD      | N-acylphosphatidylethanolamine-selective phospholipase               |
| NPY           | Neuropeptídeo Y  |
| NP            | Natação Padrão   |
| NH            | Natação Hiperlipídica  |
| PPAR $\gamma$ | Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama                |
| PPAR $\alpha$ | Receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa                |
| PPAR $\beta$  | Receptor ativado por proliferador de peroxissoma beta                |
| PPREs         | Elementos responsivos específicos aos proliferadores de peroxissomas |
| qRT-PCR       | Reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real            |
| RET           | Tecido adiposo retroperitoneal                                       |
| RNA           | Ácido ribonucleico   |

|                  |                               |
|------------------|-------------------------------|
| RNA <sub>m</sub> | Ácido ribonucleico mensageiro |
| SE               | Sistema endocanabinóide       |
| SM               | Síndrome metabólica           |
| SR-141716A       | Rimonabanto                   |
| SP               | Sedentário Padrão             |
| SH               | Sedentário Hiperlipídico      |
| TAM              | Tecido adiposo marrom         |
| TGL              | Triacilgliceróis              |
| VIS              | Tecido adiposo visceral       |
| Δ9-THC           | Δ9-Tetrahydrocannabinol       |
| 2-AG             | 2-arachidonoyl glycerol       |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Sequência dos primers utilizados.....  | 31 |
| Tabela 2: Efeitos do exercício e da dieta no consumo alimentar e ingestão calórica.<br>..... | 36 |
| Tabela 3: Efeitos do exercício e da dieta na massa relativa dos tecidos (g). ....            | 39 |
| Tabela 4: Área de adipócitos dos tecidos epididimal, retroperitoneal e visceral.....         | 40 |
| Tabela 5: Concentração de Colesterol total, HDL e Triacilgliceróis.....                      | 46 |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Efeitos centrais e periféricos da hiperatividade do SE..  | 11 |
| Figura 2: Papel do sistema endocanabinóide na adipogênese, lipogênese e sua regulação.                      | 16 |
| Figura 3: Desenvolvimento experimental.   | 22 |
| Figura 4: Treinamento de natação.   | 23 |
| Figura 5: Treinamento de força.   | 24 |
| Figura 6: Gel de agarose mostrando a integridade do RNA.  | 29 |
| Figura 7: Curva de MELT dos ciclos do qRT-PCR do gene para receptor CB1 no tecido adiposo visceral.         | 31 |
| Figura 8: Curva de Amplificação dos ciclos do qRT-PCR do gene para receptor CB1 no tecido adiposo visceral. | 32 |
| Figura 9: Ganho de massa corporal nas 3 primeiras semanas de dieta.   | 34 |
| Figura 10: Ganho de massa corporal nas 9 semanas de dieta e treinamento.                                    | 35 |
| Figura 11: Eficiência alimentar nas 3 semanas de dieta.   | 37 |
| Figura 12: Eficiência alimentar nas 9 semanas de dieta e treinamento.                                       | 38 |
| Figura 13: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Epididimal.   | 41 |
| Figura 14: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Retroperitoneal.  | 42 |
| Figura 15: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Visceral.   | 43 |
| Figura 16: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Subcutâneo.   | 44 |
| Figura 17: Conteúdo de Lipídios do Fígado.  | 45 |
| Figura 18: Expressão gênica do receptor canabinóide (CB1).  | 47 |
| Figura 19: Expressão gênica dos Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ).   | 48 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 1  |
| 1.1. Justificativa.....   | 3  |
| 1.2. Objetivo .....   | 4  |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....   | 5  |
| 2.1. Obesidade e Síndrome Metabólica .....  | 5  |
| 2.2. Sistema Endocanabinóide (SE).....  | 8  |
| 2.3. Sistema Endocanabinóide e Ingestão Alimentar .....                                     | 9  |
| 2.4. Sistema Endocanabinóide e Obesidade .....  | 10 |
| 2.5. Adipogênese, Lipogênese e SE .....   | 14 |
| 2.6. Obesidade, Exercício e SE.....   | 16 |
| 3. HIPÓTESE .....   | 20 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS .....  | 21 |
| 4.1. Animais e Condições Experimentais.....   | 21 |
| 4.2. Desenho Experimental .....   | 21 |
| 4.3. Composição das Dietas .....  | 22 |
| 4.4. Protocolos de Treinamento Físico.....  | 23 |
| 4.5. Ganho de Massa Corporal .....  | 25 |
| 4.6. Consumo Alimentar, Ingestão Calórica e Eficiência Alimentar.....                       | 26 |
| 4.7. Coleta de Sangue e Tecidos .....   | 26 |
| 4.8. Parâmetros Lipídicos.....  | 26 |
| 4.9. Determinação da Área de Adipócitos .....   | 27 |
| 4.10. Conteúdo Lipídico dos Tecidos .....   | 27 |
| 4.11. Quantificação da expressão gênica do receptor canabinóide (CB1) e PPAR $\gamma$ ..... | 28 |
| 4.11.1. Extração de RNA total do tecido adiposo visceral .....                              | 28 |
| 4.11.2. Quantificação do RNA total .....  | 29 |
| 4.11.3. Determinação da integridade do RNA .....  | 29 |
| 4.11.4. Reação em Cadeia da Polimerase – Tempo Real (PCR-RT).....                           | 30 |
| 4.12. Análise Estatística .....   | 33 |
| 5. RESULTADOS .....   | 34 |
| 5.1. Ganho de Massa Corporal .....  | 34 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 5.2.   | Consumo Alimentar, Ingestão Calórica e Eficiência Alimentar (EA).....   | 36 |
| 5.3.   | Massa Relativa dos Tecidos.....   | 39 |
| 5.4.   | Área de Adipócitos .....  | 40 |
| 5.5.   | Conteúdo de Lipídios dos Tecidos Adiposos e Fígado (% de gordura).....  | 41 |
| 5.5.1. | Tecido Adiposo Epididimal.....  | 41 |
| 5.5.2. | Tecido Adiposo Retroperitoneal.....   | 42 |
| 5.5.3. | Tecido Adiposo Visceral .....   | 43 |
| 5.5.4. | Tecido Adiposo Subcutâneo .....   | 44 |
| 5.5.5. | Fígado .....  | 45 |
| 5.6.   | Parâmetros Lipídicos.....   | 46 |
| 5.7.   | Expressão Gênica do Receptor Canabinóide (CB1) e Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ) ..... | 47 |
| 6.     | DISCUSSÃO .....   | 49 |
| 7.     | CONSIDERAÇÕES FINAIS .....  | 56 |
| 8.     | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 57 |
| 9.     | ANEXOS .....  | 68 |

## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença de origem multifatorial, pois sofre influências ambientais, comportamentais, de fatores metabólicos, hormonais e genéticos, dentre outros e está associada ao desenvolvimento de hipertensão, hiperlipidemia, esteatose hepática não alcoólica, acidente vascular cerebral e diabetes mellitus tipo 2 (James et al., 2001; AGA, 2002; Mokdad et al., 2003). A obesidade pode ser definida como uma quantidade excessiva de gordura corporal, o que aumenta o risco de doenças clínicas e tem sido reconhecida como uma das principais causas da síndrome metabólica (SM).

Com os avanços nas pesquisas, grandes mudanças estão ocorrendo em torno do conhecimento dos aspectos fisiológicos que causam a obesidade e seus efeitos sobre os processos metabólicos que ocorrem no corpo humano. Como, por exemplo, o papel do tecido adiposo antes tido apenas como um órgão de armazenamento de energia, agora é conhecido também como um órgão endócrino, que produz adipocinas como leptina, adiponectina, visfatina, resistina entre outras, que participam da modulação dos processos metabólicos (Singla *et al.*, 2010).

Esses novos conhecimentos tem proporcionado ao mundo científico entender cada vez mais como ocorre o desenvolvimento da obesidade. Um dos mais recentes estudos em relação a obesidade se refere ao sistema endocanabinóide (SE), o qual está envolvido com o controle do apetite e ingestão alimentar (Pagotto *et al.*, 2006; Di Marzo *et al.*, 2004).

Diversas ações de regulação têm sido atribuídas ao sistema endocanabinóide, dentre elas a capacidade deste sistema em controlar o apetite, a ingestão alimentar e o balanço energético (Belochio *et al.*, 2008). Além disso os receptores canabinóides CB1 e CB2 participam na modulação fisiológica de muitas funções centrais e periféricas e tem recebido grande atenção pela comunidade científica.

Recentemente foi mostrado que o sistema endocanabinóide pode controlar várias funções metabólicas, agindo sobre os tecidos periféricos, como os adipócitos, hepatócitos, trato gastrointestinal, músculo esquelético e pâncreas. A relevância do sistema endocanabinóide é ainda reforçada pelo proposto de que a obesidade visceral parece ser uma condição na qual ocorre uma hiperatividade desse sistema (Belochio *et al.*, 2008; Matias *et al.* 2008).

Assim há grande interesse por parte das sociedades científicas em investigar estratégias para prevenir ou atenuar os efeitos deletérios da obesidade. Várias pesquisas tem sido realizadas em torno do exercício físico, o qual é considerado um importante fator ambiental para regular a massa corporal e combater as doenças associadas a obesidade.

É sabido que a atividade física retarda a progressão da síndrome metabólica (Grundy *et al.*, 2004), previne o desenvolvimento de doenças coronarianas e melhora o perfil de risco aterosclerótico (Thompson *et al.*, 2003). A experiência clínica indica que exercícios de intensidade moderada reduz 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 . Além disso, a prática regular de exercício físico é considerada um fator de prevenção da obesidade e doenças relacionadas a ela (Pedersen e Saltin, 2006)

Nosso grupo de estudo demonstrou que o exercício de natação intermitente é mais efetivo que o exercício de natação contínuo na redução da adiposidade em ratos alimentados com dieta hiperlipídica (Sene-Fiorese *et al.*, 2008). Outros estudos têm mostrado que o treinamento de força também pode ser uma ferramenta eficiente na redução dos depósitos de tecido adiposo (Corriveau *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2009; Pighon *et al.*, 2009).

Em relação ao SE e exercício, Gomes da Silva *et al.*, (2010) mostraram que um programa de exercício aeróbio realizado por ratos adolescentes, reduziu significativamente a expressão de receptores CB1 no hipocampo. Também Hill *et al.*, (2010) mostrou que o exercício voluntário aumenta a sinalização endocanabinóide no hipocampo, e que essa sinalização é necessária para aumentar a proliferação celular nessa região do cérebro.

Ainda não existem estudos mostrando a influencia de diferentes protocolos de treinamento, como exercício contínuo aeróbio de baixa intensidade e longa duração, e protocolos de treinamento força de alta intensidade e curta duração sobre o SE de ratos obesos, perfil lipídico, diminuição de massa corporal e controle da obesidade.



## 1.1. Justificativa

O crescente aumento da obesidade mundial e das doenças a ela relacionadas, tem levado 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 as comorbidades a ela associadas.

O exercício físico tem se mostrado uma importante ferramenta capaz de promover inúmeros benefícios na prevenção e no tratamento da obesidade, incluindo mudanças no sistema endocanabinóide. Assim, algumas modalidades de exercício são preconizadas para auxiliar no tratamento desta doença, como por exemplo, exercícios aeróbios e treinamento de força.

Inúmeros são os estudos que mostram os efeitos benéficos do exercício aeróbio moderado na obesidade e SM, sendo esse, o tipo de treinamento mais indicado para estes casos, há anos. Já o treinamento de força somente agora vem ganhado espaço no mundo científico. O aumento no número de evidências que apontam seus efeitos benéficos em indivíduos saudáveis, atletas ou portadores de doenças como a obesidade têm contribuído para isso.

No entanto, os efeitos destes dois tipos de exercício sobre a obesidade e principalmente sobre o SE precisa de mais conhecimentos. Além disso, faltam investigações que mostrem os resultados de diferentes protocolos de exercício sobre o quadro de obesidade e SM com diferentes tipos de treinamentos e intensidades.

## 1.2. Objetivo

### Geral

Avaliar os efeitos do exercício de natação e força, na expressão gênica dos receptores endocanabinóide CB1 e PPAR $\gamma$  no tecido adiposo visceral de ratos magros e obesos.

### Específicos

Verificar se a atividade física moderada e de força e a dieta hiperlipídica tem efeito sobre:

- Expressão gênica do receptor CB1 no tecido adiposo visceral
- Expressão gênica do receptor PPAR $\gamma$  no tecido adiposo visceral
- Ganho de massa corporal
- Consumo alimentar
- Ingestão calórica
- Eficiência alimentar
- Parâmetros lipídicos: colesterol total, HDL, TGL
- Massa relativa dos depósitos de gordura visceral (VIS), retroperitoneal (RET), epididimal (EPI), subcutâneo (SUB) e o tecido adiposo marrom interescapular (TAM) e Fígado.
- Conteúdo de lipídeos nos depósitos de gordura visceral (VIS), retroperitoneal (RET), epididimal (EPI), subcutâneo (SUB) e no fígado (FIG).
- Tamanho da área de adipócitos nos tecidos visceral (VIS), retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Obesidade e Síndrome Metabólica

A obesidade é uma doença caracterizada pelo excesso de tecido adiposo, considerada o maior fator relacionado a doenças cardiovasculares e o principal componente da SM, a qual é definida pelo conjunto de anomalias cardiometabólicas que aumenta o risco de um indivíduo para desenvolver doença arterial coronariana e doença cardiovascular. 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 *et al.*, 2007; Ginsberg e Maccallum, 2009).

Nas últimas três décadas (1980-2008) a obesidade praticamente dobrou no mundo, afetando hoje mais de 500 milhões de pessoas adultas (acima de 20 anos), das quais 205 milhões são homens (9,8%) e 297 milhões são mulheres (13,8%). Estes percentuais são considerados preocupantes, uma vez que, em 1980, estavam em 4,8% (homens) e 7,9% (mulheres) (Finucane *et al.*, 2011).

No Brasil, segundo dados divulgados pelo IBGE (2010), houve um aumento contínuo no excesso de peso e obesidade na população com mais de 20 anos de idade nos últimos 35 anos. O excesso de peso quase 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 cresceu mais de quatro vezes entre os homens, de 2,8% para 12,4% (1/4 dos casos de excesso de peso) e mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9% (1/3 dos casos de excesso de peso). Por outro lado, 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 estratos de renda.

O aumento da prevalência da obesidade deve-se a dois principais fatores: mudanças nos padrões alimentares (alimentos ricos em calorias e de baixo valor nutricional) e sedentarismo (Guarente, 2006). Esses fatores devem-se principalmente às transformações demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas que ao longo do tempo permitiram a ocorrência de mudanças nos padrões nutricionais.

A obesidade é resultado de um balanço energético positivo, onde a energia ingerida excede a energia gasta. Esse balanço energético positivo pode ser resultado tanto do aumento da ingestão calórica, como uma redução do gasto calórico total, ou ainda a combinação destes dois fatores (Pereira *et al.*, 1999).

Com relação à ingestão calórica, estudos têm mostrado que a dieta hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade, já que comprovadamente levou ao excesso de gordura corporal em humanos (Riccardi *et al.*, 2004; Woods *et al.*, 2003) e animais (Riccardi *et al.*, 2004; Duarte *et al.*, 2008). É importante ressaltar que a obesidade induzida por esse tipo de dieta foi classificada como hipertrófica e hiperplásica, isto é, aumenta tanto o tamanho quanto o número das células adiposas, respectivamente (Kadowaki *et al.*, 2002). A hipertrofia desse tecido ocorre particularmente no compartimento visceral, o qual está associado à resistência à insulina, hiperglicemia, dislipidemias, hipertensão e estados pró-trombóticos e inflamatórios (Wellen & Hotamisligi, 2005).

O aumento na ingestão lipídica leva a um balanço energético positivo e, conseqüentemente, ao acúmulo de massa adiposa, visto que a eficiência com que o lipídio da dieta é estocado como gordura corporal é cerca de 96%. Comparando com todos os outros macronutrientes, os lipídios são os que apresentam a maior densidade energética e a maior capacidade de estoque no organismo (World Health Organization, 1998).

De acordo com Rosenbaum *et al.*, (1997), uma pequena diferença entre a energia ingerida e a gasta pode levar a grandes aumentos na gordura corporal. Por exemplo, a ingestão de apenas 5% a mais de calorias do que a energia gasta pode resultar no acúmulo de 5kg de tecido adiposo em um ano. A ingestão de apenas 8 kcal por dia a mais do que a gasta durante 30 anos pode levar a um aumento de 10kg de peso corporal, que é a quantidade média de peso ganho pelos norte-americanos adultos durante tal período, dos 25-55 anos de idade.

Portanto, para que haja uma diminuição dos estoques de gorduras corporais é necessário que esse balanço energético se torne negativo, ou seja, que se gaste mais energia do que a ingerida (Ciolac e Guimarães, 2004). Uma das formas utilizadas para que o balanço energético se torne negativo são as dietas restritivas. No entanto esse tipo de dieta, leva a diminuição da massa magra e perda de minerais, além de não permitir que o indivíduo permaneça por um período maior em restrição, levando ao efeito conhecido como *ioiô* (alternância entre períodos de

restrição alimentar e realimentação). Um dos estudos do nosso laboratório utilizando ratos obesos submetidos à intervenção de restrição alimentar severa, quando realimentados, levou à reposição da massa gorda além do desenvolvimento de dislipidemias (Duarte *et al.*, 2008).

Assim, o ideal seria a união da reeducação alimentar e o exercício físico, os quais são amplamente reconhecidos para a prevenção e tratamento da obesidade e doenças associadas. O exercício prolongado de intensidade moderada está associado a diminuição da massa gorda em adultos e adolescentes com sobrepeso através de um aumento da energia gasta, restaurando a capacidade do músculo esquelético para oxidar gorduras (Goodpaster *et al.*, 2003; Levin e Dunn-Meynell, 2004; Luiken *et al.*, 2000) e melhorando a atividade lipolítica do tecido adiposo (De Glisezinski *et al.*, 2003; Moro *et al.*, 2005).

A regulação do balanço energético consiste em uma complexa rede de sistemas de feedback, envolvendo controle hormonal e neural da energia ingerida e da energia gasta. O desequilíbrio energético leva a mudanças bruscas no metabolismo dos adipócitos, determinando se os triacilgliceróis são mobilizados ou armazenados, se a glicose será oxidada ou convertida em ácidos graxos ou em glicogênio (Silvestri *et al.*, 2011).

Da mesma forma o SE, descoberto na década de 90, vem apresentando um papel chave na regulação da homeostase energética sendo um dos principais determinantes sobre os distúrbios metabólicos (Di Marzo *et al.*, 2008; Silvestri *et al.*, 2011).

As pesquisas visando a compreensão desse sistema e suas implicações na obesidade aumentaram muito com o surgimento de ferramentas, como agentes sintéticos farmacológicos e animais geneticamente manipulados. O SE é um dos sistemas de sinalização que controlam o comportamento alimentar, exercendo seus efeitos em vários níveis. Ele pode acentuar ou diminuir o desejo de consumir alimentos (interagindo com o mecanismo de recompensa), modular os mediadores orexígenos ou anorexígenos e induzir o apetite após períodos de jejum (Bennetzen, 2011).

A ativação do CB1 também aumenta a formação de adipócitos (via enzimas lipogênicas), aumenta o armazenamento de triacilgliceróis e facilita a absorção de glicose necessária para a lipogênese de novo (Di Marzo *et al.*, 2001; Cota *et al.*, 2003b; Matias *et al.*, 2006).

Dessa maneira a grande maioria dos estudos tem tratado até agora, da função e modulação dos receptores CB1 no tecido adiposo branco e outros tecidos periféricos envolvidos com o metabolismo energético ,como por exemplo, o fígado e o músculo, representando assim uma pista adicional para entender a função do tecido adiposo e sua desregulação na obesidade humana (Pagano *et al.*, 2007).

## 2.2. Sistema Endocanabinóide (SE)

O sistema endocanabinoide é constituído pelos receptores canabinóides chamados CB1 e CB2, substâncias canabinóides agonistas e antagonistas, e enzimas que catalisam sua síntese e degradação (Di Marzo e Matias, 2005; Cota *et al.*, 2003a). Este sistema parece possuir ações neuromodulatórias, pois tem influencia sobre a atividade de outros sistemas neurotransmissores (Di Marzo et al, 1998).

Os receptores canabinóides CB1 estão localizados principalmente no cérebro e tecidos periféricos como o pâncreas, fígado, músculo esquelético e tecido adiposo, enquanto os receptores CB2 estão localizados nas células do sistema imune. Os receptores CB1 foram identificados pela primeira vez no cérebro de ratos em estudo do princípio ativo da substância  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol (THC) da planta *Cannabis Sativa* conhecida também como maconha (Howlett *et al.*, 2002; Di Marzo e Matias, 2005).

Os receptores canabinóides foram clonados a partir de tecido de ratos e posteriormente de humanos, sendo homólogos em 97-99%, e pertencem à família de receptores acoplados a proteína G (Howlett *et al.*, 2002).

Além do  $\Delta$ 9-THC proveniente da *Cannabis Sativa*, na década de 90, foram descobertas duas substâncias agonistas endógenas dos receptores canabinóides: a *N-arachidonoyl ethanolamine* (Anandamida) e a *2-arachidonoyl glycerol* (2-AG) (Di Marzo *et al.*, 2004), as quais são derivadas da membrana fosfolipídica e triacilgliceróis, respectivamente (Engeli *et al.*, 2006).

As enzimas *N-acylphosphatidylethanolamine-selective phospholipase D* (NAPE-PLD) e *sn-1-selective diacylglycerol lipases* (DAG Lipase) são responsáveis pela síntese dessas substâncias endocanabinóides, enquanto as enzimas *fatty acid*

*amide hydrolase* (FAAH) e *monoacylglycerol lipase* (MAG lipase) são responsáveis pela hidrólise da anandamida e o 2-AG, respectivamente (Di Marzo e Matias, 2005).

A anandamida é capaz de reproduzir em roedores, os mesmos efeitos do  $\Delta^9$ -THC sobre a proteína G, adenilato ciclase e canais de  $\text{Ca}^{+2}$  (Di Marzo *et al.*, 1998). Pode ligar-se aos receptores CB1 e CB2, porém existe uma afinidade maior para os receptores CB1. O 2-AG foi identificado como ligante seletivo para CB2, com menor afinidade para o CB1 (Felder *et al.*, 1995).

Ao contrário dos neurotransmissores clássicos os endocanabinóides são sintetizados sob demanda em resposta a estimulação aguda. A anandamida é liberada pelos neurônios após a despolarização da membrana e influxo em  $\text{Ca}^{+2}$  da célula, e é inativada pela recaptação e mecanismos de degradação enzimática (Engeli *et al.*, 2006).

A função principal dos endocanabinóides é restaurar a homeostase em locais que tenham sofrido algum tipo de desequilíbrio devido a condições patológicas ou de estresse, como por exemplo, jejum, atividade neural intensa, danos celulares, atividade intensa dos receptores de citocinas inflamatórias e obesidade, dentre outras (Di Marzo *et al.*, 2001).

### **2.3. Sistema Endocanabinóide e Ingestão Alimentar**

A caracterização de uma série de neuropeptídeos presentes em diferentes núcleos hipotalâmicos e a capacidade de sinais derivados de órgãos periféricos para modular a atividade desses neuropeptídeos sugerem a existência de uma complexa rede hipotalâmica que contribui para o controle do balanço energético e ingestão alimentar (Schwartz *et al.*, 2000).

Os endocanabinóides e o receptor CB1 estão presentes em altas concentrações em áreas hipotalâmicas que estão envolvidas com o controle alimentar como a área ventro-medial, a dorsomedial, a lateral, os núcleos arqueados e os paraventriculares (Cota *et al.*, 2003b; Howlett *et al.*, 2004). Também estão localizados próximos a diversos sítios de produção de neurotransmissores relacionados ao comportamento alimentar, como CRH (*Corticotropin Releasing Hormone*), MCH (*Melanin Concentrating Hormone*), CART (*Cocaine-Amphetamine Related Transcript*) (Cota *et al.*, 2003b).

Um forte indício do envolvimento do SE e os receptores CB1 na modulação do apetite e ingestão alimentar, veio da observação de que compostos antagonistas ao CB1 são capazes de influenciar negativamente o aumento da ingestão de sacarose induzida pelo neuropeptídeo Y (NPY) (gene orexígeno) (Armone *et al.*, 1997).

Resultados consistentes tem sido obtido com animais CB1(-/-) e rimonabanto (substância antagonista aos receptores CB1) sobre os efeitos no comportamento alimentar com relação à alterações no peso corporal. Camundongos CB1(-/-) são magros e resistentes à obesidade induzida por dieta. O peso corporal e massa de gordura corporal de ratos CB1(-/-) são cerca de 24% e 60% inferiores aos ratos tipo selvagem CB1(+/+), respectivamente (Ravinet Trillou *et al.*, 2003). O fenótipo magro está associado a mudanças no equilíbrio entre os sistemas orexígeno e anorexígenos no sistema nervoso central.

Di Marzo *et al.*, (2001) reforçou essa idéia quando demonstrou que o tratamento agudo com leptina (hormônio anorexígeno) em ratos normais e ob/ob reduziu as concentrações de anandamida e 2-AG no hipotálamo e que um defeito da sinalização da leptina está associado com altos níveis de endocanabinóides hipotálamicos, como demonstrado em camundongos ob/ob (obesos) e fa/fa (animais não funcionais para os receptores de leptina). Além disso, quando esses animais com acesso ad libitum ao alimento foram tratados com o antagonista SR-141716A (Rimonabanto) para CB1, tiveram sua ingestão significativamente reduzida, e o tratamento crônico durante uma semana resultou em diminuição significativa da massa corporal. Estes experimentos permitiram concluir que os endocanabinóides hipotalâmicos estão envolvidos com a homeostase energética e estão sob controle hormonal, e que os níveis desses hormônios estão alterados durante distúrbios metabólicos.

#### **2.4. Sistema Endocanabinóide e Obesidade**

Em situações de desequilíbrio crônico, como a obesidade, o sistema endocanabinóide torna-se desregulado, e a síntese e ação das substâncias endocanabinóides perde especificidade, levando os receptores canabinóides a um estado hiperativado (Di Marzo *et al.*, 2001).



## Efeitos centrais e periféricos da hiperatividade do Sistema Endocanabinóide

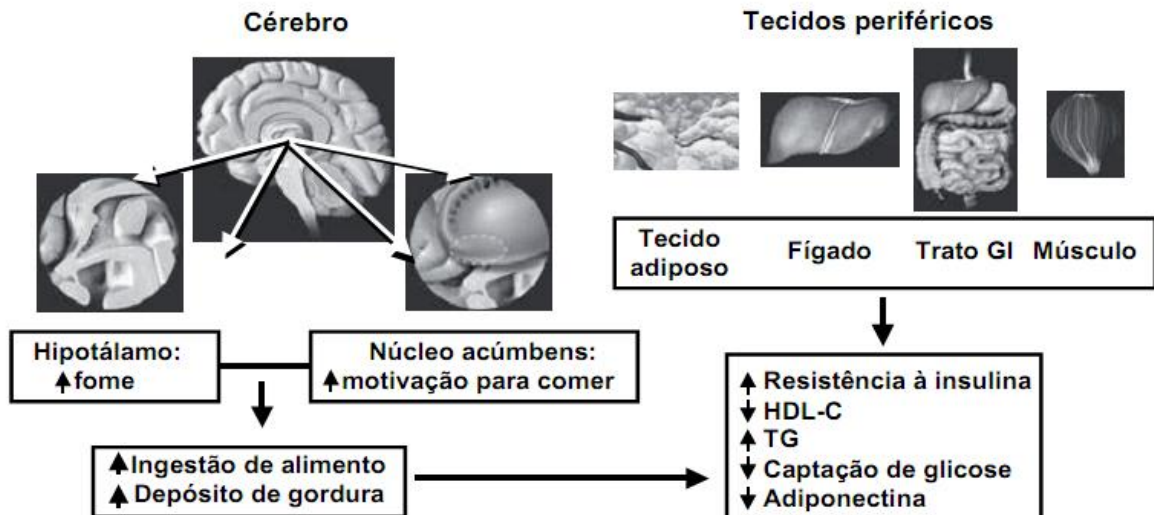


Figura 1: Efeitos centrais e periféricos da hiperatividade do SE. Repercussões da hiperatividade do sistema endocanabinóide nos centros responsáveis pela fome e motivação para comer e nos tecidos periféricos. A hiperatividade sustentada contribui para o desenvolvimento do sobrepeso e obesidade e emergência de fatores de risco cardiometabólico que se agregam sob a denominação de síndrome metabólica. Adaptado de Di Marzo e Matias (2005), Pagotto et al, (2006) in: Francischetti e Abreu, (2006).

Os efeitos centrais da hiperativação dos receptores CB1 refletem na modulação do balanço energético e no controle do apetite, levando ao aumento de peso, além de poder induzir fenótipos dislipidêmicos e disglucêmicos (Di Marzo e Matias, 2005).

Em estudo comparando camundongos obesos e normais foi mostrado que a ativação dos receptores CB1 pelas substâncias endocanabinóides endógenas ou THC e a injeção de endocanabinóide diretamente no hipotálamo ou na região mesolímbica, estimula o consumo de alimentos (Kirkham *et al.*, 2002). Já em animais *knockout* para CB1, houve menor consumo de alimento e os animais apresentaram fenótipo magro e resistente ao aumento de massa corporal induzida por dieta (Di Marzo *et al.*, 2001). Em condições normais, a ingestão de nutrientes reduz os níveis de endocanabinóides no hipotálamo e no pró-encéfalo límbico, enquanto o jejum tem efeito oposto, elevando-os de forma expressiva (Kirkham *et al.*, 2002).

Em outro estudo no qual foi administrado anandamida a camundongos, verificou-se que a ingestão alimentar aumentou em 44% e os níveis hipotalâmicos de norepinefrina, dopamina e serotonina também se elevaram (Hão *et al.*, 2000).

A dieta hipercalórica tem efeito direto sobre a estimulação do sistema endocanabinóide, pois em estudos onde ratos foram alimentados com tal dieta, houve aumento da concentração da anandamida e 2-AG no cérebro (substâncias agonistas dos receptores CB1), elevação da massa corporal com significativo aumento no tamanho dos adipócitos, como também na expressão dos receptores CB1 (Engeli *et al.*, 2008).

Ravinet Trillou *et al.*, (2004) estudando ratos *Knockout* para receptores CB1 e alimentados com dieta hiperlipídica, observaram que esses animais não se tornaram obesos e mantiveram baixos os níveis de insulina não desenvolvendo resistência a sua ação.

Em estudo onde foram comparados os níveis circulantes de anandamida e 2-AG entre mulheres obesas e magras, as primeiras apresentaram níveis 35 e 52% acima para as respectivas substâncias quando comparado com as magras (Engeli *et al.*, 2005). Pagano *et al.*, (2007) também observou síntese elevada das enzimas endocanabinóides em indivíduos obesos, assim como a expressão de genes que codificam o receptor CB1 no tecido adiposo visceral.

No entanto outros estudos encontraram resultados contrários no que se refere a expressão de CB1 nos diferentes tecidos adiposos, como o de Bennetzen *et al.*, (2010), no qual comparou-se os tecidos adiposos visceral (VIS) e subcutâneo (SUB) de mulheres magras e obesas. Os resultados mostraram que a expressão do receptor CB1 foi 17 vezes maior no SUB em comparação com o VIS em mulheres magras. Em contrapartida, nenhuma diferença entre SUB e do VIS foi encontrada em mulheres obesas. Além disso, as mulheres magras apresentaram uma expressão dos receptores CB1 no SUB 7 vezes maior que as mulheres obesas. Enquanto a expressão dos receptores CB1 no VIS foi apenas 2 vezes maior nas mulheres obesas comparada às magras. Lofgren *et al.*, (2007) por outro lado não encontraram diferenças na expressão do receptor CB1 entre mulheres magras e obesas nos tecidos adiposos visceral e subcutâneo.

Esses resultados contraditórios indicam a necessidade de mais estudos sobre o papel do sistema endocanabinóide na obesidade, pois ainda não se sabe se diferentes IMCs podem ter implicações nesse sistema, e em que ponto da

obesidade ocorre as mudanças que desregulam tal sistema. Não sabemos também se SE é regulado da mesma maneira em mulheres e homens (Bennetzen *et al.*, 2010).

Assim os pesquisadores têm trabalhado para conhecer até que ponto essas diferenças influenciam na regulação do SE, como também para encontrar maneiras de minimizar seus efeitos na obesidade.

Em 1994 foi descoberta a primeira substância antagonista para o receptor CB1, chamada de rimonabanto ou SR141716. O rimonabanto é um bloqueador dos receptores CB1, que inibe a estimulação dos CB1, levando a perda de massa corporal e tornando os indivíduos resistentes ao desenvolvimento de obesidade (Di Marzo e Matias, 2005). A inibição dos receptores CB1 pelo rimonabanto com dose de 10mg/kg/dia, durante 12 semanas, reduziu a obesidade em ratos por meio do aumento da lipólise do tecido adiposo (Jbilo, 2005).

O rimonabanto em dose única diária de 5mg e 20mg, associado à dieta hipocalórica levou a perda de massa corporal, respectivamente, em relação ao placebo, de 3,4kg e de 6,6kg em humanos obesos. Houve ainda melhora dos níveis de HDL, triglicérides, resistência à insulina e diminuição dos fatores indicadores de síndrome metabólica. No entanto os efeitos colaterais como depressão, irritabilidade, ansiedade, tonturas e náuseas, levaram 13% dos pacientes a interromperem o tratamento (Van Gaal *et al.*, 2005).

Em conjunto, estes estudos indicam mais uma vez que o sistema endocanabinóide tem função importante na ingestão alimentar, apresentando papel crucial na fisiopatologia da obesidade e suas complicações. Assim, várias pesquisas têm sido realizadas no sentido de descobrir uma maneira de combater e tratar a obesidade.

Neste sentido, a combinação do exercício físico e alimentação equilibrada são consideradas a principal forma de tratamento não farmacológica e não invasivo para o controle da obesidade, com o objetivo de controlar a massa corporal e as alterações metabólicas decorrentes da obesidade.

## 2.5. Adipogênese, Lipogênese e SE

A adipogênese é o processo de diferenciação de células mesenquimais em células de tecido adiposo, e ocorre em duas fases: a primeira, conhecida como determinação, envolve o compromisso de uma célula-tronco pluripotente com a linhagem de adipócitos, ou seja é a conversão da célula tronco em um pré-adipócito, que não pode ser distinguido morfológicamente de sua célula precursora, mas que perdeu o potencial de se diferenciar em outros tipos celulares. A segunda fase, que é conhecida como diferenciação terminal, o pré-adipócito assume as características de adipócitos maduros, adquirindo a maquinaria necessária para o transporte e síntese de lipídios, sensibilidade à insulina e para a secreção de proteínas específicas dos adipócitos (Rosen & MacDougald, 2006).

A lipogênese se refere aos processos de síntese de ácidos graxos quando ocorre excesso de energia ingerida, principalmente provenientes dos carboidratos, mas também está relacionada as modificações no tamanho (diâmetro e volume) dos adipócitos maduros, ou seja, ao acúmulo de lipídeos na forma de triacilgliceróis no interior da célula adiposa. (Dâmaso, 2001 ).

Os processos de adipogênese e lipogênese são altamente controlado por fatores de transcrição, como o receptor ativado por proliferadores de peroxissomas gama (PPAR $\gamma$ ), que desempenha um papel-chave na complexa cascata transcricional. Sinais hormonais e nutricionais também afetam a diferenciação, e componentes envolvidos na interação célula-célula ou na matriz celular são importantes na regulação desse processo (Wajchenberg *et al.*, 2002).

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs) são fatores de transcrição ativados por ligantes específicos (naturais ou sintéticos) provenientes do exterior da célula e que regulam a transcrição de inumeros genes relacionados aos peroxissomas. Esses receptores pertencem a superfamília de receptores nucleares que compreendem os receptores de hormônios esteróides, os receptores de hormônios tireoidianos e o receptor de vitamina D (Mangelsdorf *et al.*, 1995).

Três proteínas, codificadas por genes distintos, têm sido identificadas: PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  e PPAR $\gamma$ , que controlam a expressão gênica pela ligação a elementos responsivos específicos aos proliferadores de peroxissomas (PPREs) localizados na região promotora. (Wagener *et al.*, 2010)

O PPAR $\gamma$  é um fator de transcrição pertencente à família de receptores nucleares que regulam a homeostase da glicose e metabolismo dos lipídeos, influenciando na diferenciação dos adipócitos e regulando o acúmulo de lipídios. O PPAR $\gamma$  é expresso em três isoformas, PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 e PPAR $\gamma$ 3. A isoforma mais relevantes para a homeostase energética é PPAR $\gamma$ 2 que é expressa no tecido adiposo. Sua ativação induz o acúmulo de gordura, diferenciação celular lipídica e aumenta a sensibilidade à insulina (Ferre, 2004; Stienstra *et al.*, 2007).

Para Tontonoz *et al.*, (1994), o PPAR $\gamma$  é necessário e suficiente para diferenciação de adipócitos, pois a introdução de PPAR $\gamma$  em fibroblastos induziu a diferenciação destas células em adipócitos. Barak *et al.*, (1999), trabalhando com camundongos *Knockouts* para PPAR $\gamma$ , observaram que estes apresentavam reduzida quantidade de tecido adiposo ou exibiam extrema lipodistrofia. Novos estudos vem sendo realizados relacionando o PPAR $\gamma$  com o SE, levando a indícios de que o SE desempenha importante papel, tanto na adipogênese, quanto na lipogênese.

Cota *et al.*, (2003b) mostrou pela primeira vez que ratos selvagens apresentam quantidade significativamente maior de massa gorda e menor da massa magra do que camundongos knockout para CB1. Eles também mostraram que os receptores CB1 estão presentes no tecido adiposo visceral e estão ligados a estimulação da atividade da lipase lipoproteína, sugerindo que o SE contribui para o acúmulo de lipídeos no tecido adiposo.

De acordo com estudo realizado por Pagano *et al.*, (2007), altos níveis de CB1 e substâncias ECB aumentam a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros. Também foi demonstrado neste estudo que a estimulação dos pré-adipócitos pelo CB1 é acompanhada de um aumento de RNAm para o PPAR $\gamma$ , o qual é uma das chaves de ativação deste processo, assim como pelo aumento do tamanho dos adipócitos e conteúdo de triglicédeos.

Matias *et al.*, (2006) também demonstraram que houve um aumento significativo na expressão de PPAR $\gamma$  durante a diferenciação celular (pré-adipócitos em adipócitos maduros), e que uma intervenção aguda ou crônica com leptina foi capaz de diminuir a expressão de anadamida e 2-AG .

A figura 2 mostra as diversas vias pelas quais a estimulação do CB1 pode aumentar a capacidade de armazenamento de tecido adiposo: pela estimulação da diferenciação de pré-adipócitos (via PPAR- $\gamma$  e, possivelmente, por

estimular a liberação de insulina a partir das células beta); pelo aumento da síntese de novo de ácidos graxos (por meio da estimulação de lipase-lipoproteica e *upregulation* dos níveis de ácidos graxos e captação de glicose); pela redução da oxidação dos ácidos graxos (via inibição da AMPK), e pelo aumento do acúmulo de triacilgliceróis (via inibição da lipólise). Além disso, o sistema é regulado negativamente por outros PPARs, pela leptina e pela insulina (Di Marzo, 2008).

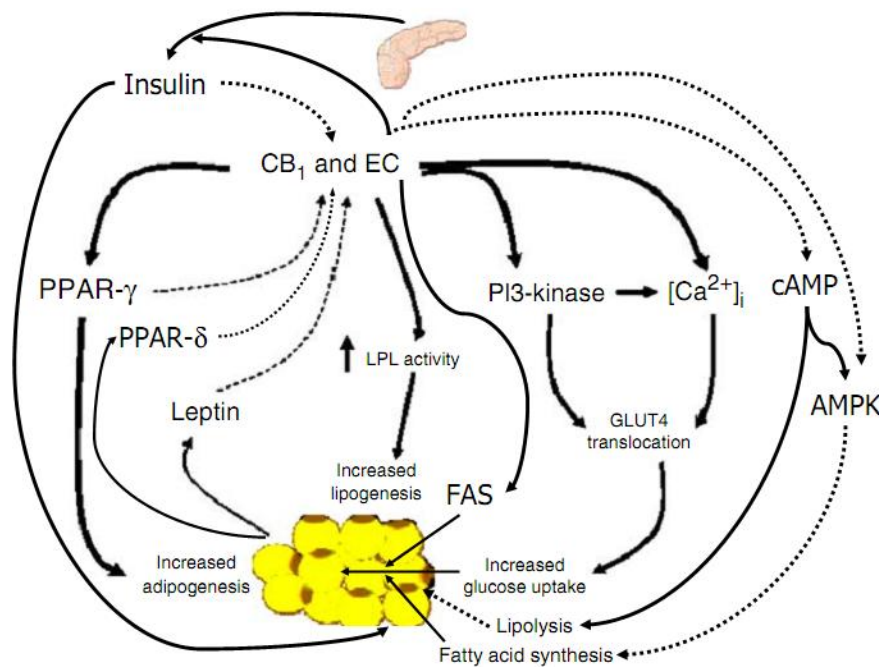


Figura 2: Papel do sistema endocanabinoide na adipogênese, lipogênese e sua regulação. Setas inteiras indicam ativação e setas tracejadas indicam inibição (Di Marzo, 2008).

## 2.6. Obesidade, Exercício e SE

A prática regular de exercício físico tem sido recomendada para a prevenção e tratamento da obesidade, para reabilitação de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas. Além disso o exercício físico é considerado um importante componente comportamental para evitar o sedentarismo. Estudos epidemiológicos têm demonstrado relação direta entre o sedentarismo e a presença de diversos fatores de risco para saúde, como os encontrados na síndrome metabólica, como por exemplo, hipertensão arterial, resistência à insulina, diabetes, dislipidemia e obesidade. Entretanto, tem sido demonstrado que a prática

regular de exercício físico apresenta efeitos benéficos na prevenção e tratamento dessas doenças (Rennie *et al.*, 2003; Lakka *et al.*, 2003; Gustat *et al.*, 2002)

Diversas pesquisas tem demonstrado que os benefícios do exercício físico sobre a obesidade podem ser alcançados com diferentes intensidades, indicando que a manutenção de um estilo de vida ativo, independente de qual atividade praticada, pode evitar o desenvolvimento dessa doença. Também tem se evidenciado que o exercício físico realizado de forma crônica tem sido amplamente utilizado como um eficiente recurso para promover aumento do gasto energético e modificações importantes no perfil lipídico, tais como: diminuição do colesterol total, LDL-colesterol, porcentagem de gordura corporal, aumento da massa magra, da taxa metabólica basal e do HDL-colesterol. (Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Lira *et al.*, 2008; Chapados *et al.*, 2009).

Considerando que o exercício físico regular pode prevenir ou tratar a obesidade e doenças a ela relacionadas, a sociedade científica têm estudado as alterações metabólicas provocadas pelos diferentes tipos de exercício e em diferentes intensidades, em humanos e animais obesos. No entanto, sabe-se que a frequência, a intensidade e a duração do exercício, bem como o tipo de dieta utilizada têm promovido diferentes adaptações metabólicas (Leite *et al.*, 2009; Lira *et al.*, 2008;). Assim, tem se investigado os efeitos provocados por diferentes modelos de exercício sobre a adiposidade corporal, conteúdo de gordura no fígado, perfil lipídico e massa corporal.

Neste contexto, o exercício aeróbio moderado contínuo realizado isoladamente ou associado a outros tipos de treinamento e dietas, tem sido considerado uma das melhores estratégias não-farmacológicas na prevenção e tratamento da obesidade e doenças cardiovasculares (Pedersen 2009; Davidson *et al.*, 2009; Church *et al.*, 2011). Vários estudos mostram que o exercício aeróbico de intensidade moderada realizado regularmente mesmo na ausência de intervenção dietética, leva a perda de massa corporal. Ross e Janssen (2001), relataram que 16 semanas de exercício aeróbio provocou perda de massa corporal semanal média de 0,2 kg, com uma perda total de 2,3 kg. Varadi *et al.*, (2011), observaram que o exercício aeróbio realizado três vezes por semana durante 12 semanas, provocou uma perda média de 5% na massa corporal de adultos obesos.

Quanto a intensidade do exercício, Ahmadi *et al.*, (2011) observaram que o exercício intenso realizado por indivíduos obesos e acompanhado de restrição

calórica moderada durante sete meses levou a melhoria da função vascular da carótida, diminuindo o risco de aterosclerose, reduziu marcadores inflamatórios, lipídios e resistência à ação da insulina.

Além do exercício aeróbio, estudos recentes têm utilizado o treinamento de força isolado ou associado a outros tipos de treinamento, como por exemplo, o treinamento aeróbio e flexibilidade, para a promoção, manutenção e reabilitação da saúde (Geisler et al., 2011; Davidson *et al.*, 2009). O treinamento de força também está associado à redução do risco de doenças relacionadas a baixo grau de inflamação, tais como aterosclerose, obesidade e resistência à insulina (Bastard *et al.*, 2006). Diversos estudos clínicos têm observado mudanças benéficas no perfil lipídico, aumento da massa magra e diminuição da massa gorda de indivíduos magros e obesos após um período de treinamento de força (Costa *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2010). Pesquisas com ratos obesos submetidos ao treinamento de força também têm mostrado efeitos benéficos quanto ao controle da adiposidade, ganho de massa corporal, perfil lipídico e diminuição da resistência a insulina (Paveloski-Costa *et al.*, 2011; Goodpaster e Kelley, 2002).

Com base nesses achados podemos afirmar que o treinamento de força também é uma alternativa importante para controlar os efeitos deletérios da obesidade sobre o perfil lipídico, depósito de gordura, conteúdo lipídico dos tecidos e resistência a insulina.

Recentes pesquisas têm estudado a relação obesidade, exercício e sistema endocanabinóide, já que é conhecido a contribuição deste sistema para o controle do balanço energético e ingestão alimentar (Schwartz *et al.*, 2000; Di Marzo *et al.*, 2001). É amplamente conhecido que o exercício físico é capaz de ativar o SE. Sparling *et al.*, (2003), observaram que o treinamento de corrida ou bicicleta, em universitários treinados do sexo masculino, por 50min entre 70-80% da frequência cardíaca máxima, ativou o sistema endocanabinóide. Morgan (1979), in Dietrich e McDaniel (2004), sugeriu que a sinalização do receptor CB1 pode ser responsável pelo vício por exercício em corredores de longa distância. Kenney *et al.*, (2008), também concluíram que o exercício voluntário em roda altera a sinalização endocanabinóide em ratos. Hill *et al.*, (2010), demonstraram que o exercício voluntário aumentou a formação de células progenitoras no hipocampo, e que o tratamento com AM251 (substância antagonista do receptor CB1) diminuiu essa formação.



Em estudo de Yan *et al.*, (2007), o grupo alimentado com dieta hiperlipídica apresentou valores significativamente maiores na expressão de CB1 no tecido adiposo visceral e no tamanho dos adipócitos, quando comparado ao grupo controle e ao grupo exercitado alimentado com dieta hiperlipídica. Este último grupo apresentou expressão de CB1 no tecido adiposo visceral e subcutâneo reduzida em 33% e 71%, respectivamente comparados aos controles.

Gomes da Silva *et al.*, (2010), mostraram uma significativa redução na expressão de receptores CB1 no hipocampo de ratos submetidos a exercício em esteira, quando comparado ao grupo controle, no entanto não houve diferença significativa entre os grupos na expressão dos receptores CB1 no córtex.

Apesar do grande número de pesquisas relacionando exercício e SE, a maioria deles é em relação ao SE e suas outras funções como: dor, prazer, vício, comportamento, entre outras, e não em relação ao exercício e obesidade. Poucos estudos tem sido realizados para avaliar a ação do exercício físico sobre o sistema endocanabinóide no quadro de obesidade, apesar de ser conhecido o importante papel do SE na regulação do controle da ingestão alimentar, adipogênese, lipogênese e balanço energético.

Diante dos conhecimentos apresentados neste trabalho sobre os benefícios do exercício físico e sabendo que o exercício físico ativa o SE, o qual tem influencia direta no controle da ingestão alimentar, este estudo analisou a influência da dieta hiperlipídica e de dois tipos de exercício na expressão gênica dos receptores canabinóides no tecido adiposo visceral e adaptações nos parâmetros lipídicos e morfológicos de ratos obesos.

### **3. HIPÓTESE**

De acordo com a revisão bibliográfica apresentada anteriormente a hipótese do nosso trabalho foi que, a dieta hiperlipídica leva ao desenvolvimento da obesidade através do aumento dos tecidos adiposos, dislipidemias e superestimulação do sistema endocanabinóide. E que os protocolos de treinamento (força e natação) são capazes de prevenir os efeitos deletérios deste tipo de dieta, promovendo mudanças no perfil lipídico, tecidos adiposos, fígado e receptores CB1.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Animais e Condições Experimentais

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados 60 ratos machos adultos, com 90 dias, da Linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais e permaneceram no Biotério do Laboratório de Nutrição e Exercício Aplicados ao Metabolismo desta universidade em temperatura ambiente entre 22 e 24°C e com luz controlada em ciclo de 12 h (claro/escuro). A água e a alimentação foram administradas *ad libitum*. O experimento foi conduzido segundo as normas internacionais de ética na experimentação animal. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSCar (Protocolo nº 032/2009).

### 4.2. Desenho Experimental

Os animais foram divididos em 6 grupos contendo 10 animais cada:

**SP** – Sedentário Padrão: animais mantidos sedentários e alimentados com dieta padrão, durante onze semanas.

**SH** – Sedentário Hiperlipídica: animais mantidos sedentários e alimentados com dieta hiperlipídica, durante onze semanas.

**NP** – Natação Padrão: Animais mantidos sedentários, alimentados com dieta padrão durante três semanas, e logo depois exercitados e alimentados com dieta padrão durante oito semanas.

**NH** – Natação Hiperlipídica: Animais mantidos sedentários, alimentados com dieta hiperlipídica durante três semanas, e logo depois exercitados e alimentados com dieta padrão durante oito semanas.

**FP** – Força Padrão: Animais mantidos sedentários, alimentados com dieta padrão durante três semanas, e logo depois exercitados e alimentados com dieta padrão durante oito semanas.

**FH** – Força Hiperlipídica: Animais mantidos sedentários, alimentados com dieta hiperlipídica durante três semanas, e logo depois exercitados e alimentados com dieta padrão durante oito semanas.

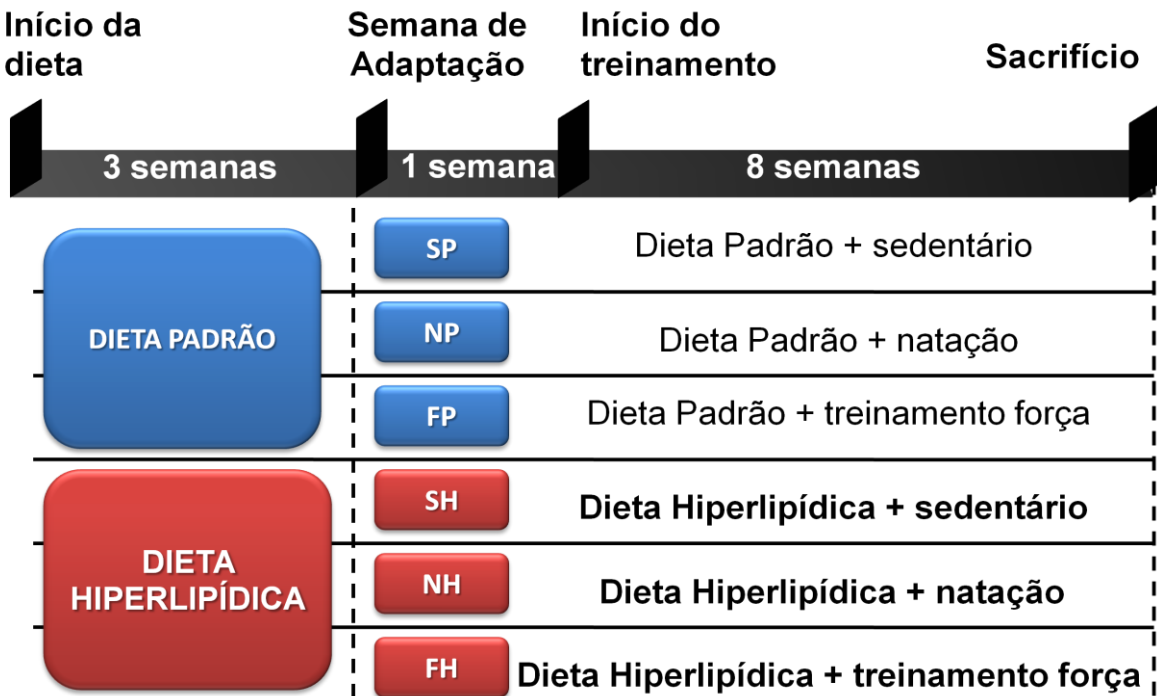


Figura 3: Desenvolvimento experimental.

### 4.3. Composição das Dietas

No presente estudo foram utilizadas duas dietas: a dieta padrão foi composta pela ração balanceada da marca PRIMOR (São Paulo, Brasil), contendo a cada 100g: 23g de proteína, 49g de carboidrato, 4g de gordura, 5g de fibra, 7g de cinza, 6g de vitaminas e 6g de matéria mineral, conforme fornecido pelo fabricante. A dieta hiperlipídica foi previamente padronizada por Estadella *et al.*, (2004), como uma dieta capaz de desenvolver obesidade em ratos, composta pela mistura de ração balanceada da marca PRIMOR, amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena, na proporção de 3:2:2:1. Os ingredientes foram moídos e misturados, e a dieta foi oferecida aos animais em forma de pellets. Foi realizado o teste bromatológico para confirmar as quantidades dos componentes da dieta hiperlipídica, o qual constatou 22,33g de gordura para 100g de dieta (anexo1).

#### 4.4. Protocolos de Treinamento Físico

##### *Natação:*

Após três semanas alimentados com dietas padrão ou hiperlipídica, os grupos NP e NH foram submetidos ao treinamento de natação de intensidade moderada. Os animais passaram por uma semana de adaptação, começando o treinamento com duração de 30 minutos, progredindo diariamente até alcançarem 60min/dia. O treinamento foi realizado com uma frequência de 05 vezes por semana, durante 60 minutos/dia, por um período de oito semanas com 5% do peso corporal atado ao corpo (Gobato *et al.*, 2001). Os animais nadaram em tanques individuais de 50 cm de altura por 30 cm de diâmetro, sendo a temperatura da água mantida entre 30-34°C e trocada diariamente (figura 4 ).



Figura 4: Treinamento de natação.

### *Treinamento de Força:*

Após três semanas alimentados com dietas padrão e hiperlipídica, os grupos EP e EH iniciaram o treinamento de força. O protocolo de Hornerberg e Farrar (2004) foi adaptado para as necessidades e execução da pesquisa. Inicialmente os ratos foram familiarizados com o treinamento de força que consiste em subidas em uma escada (1,1 x 0,18m, 2-cm espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação) com uma carga de aparatos fixados em suas caudas (figura 5). Devido ao tamanho da escada os animais realizavam de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato fixado na cauda consistiu em frascos cônicos plásticos com pesos de chumbo, presos a uma fita adesiva.

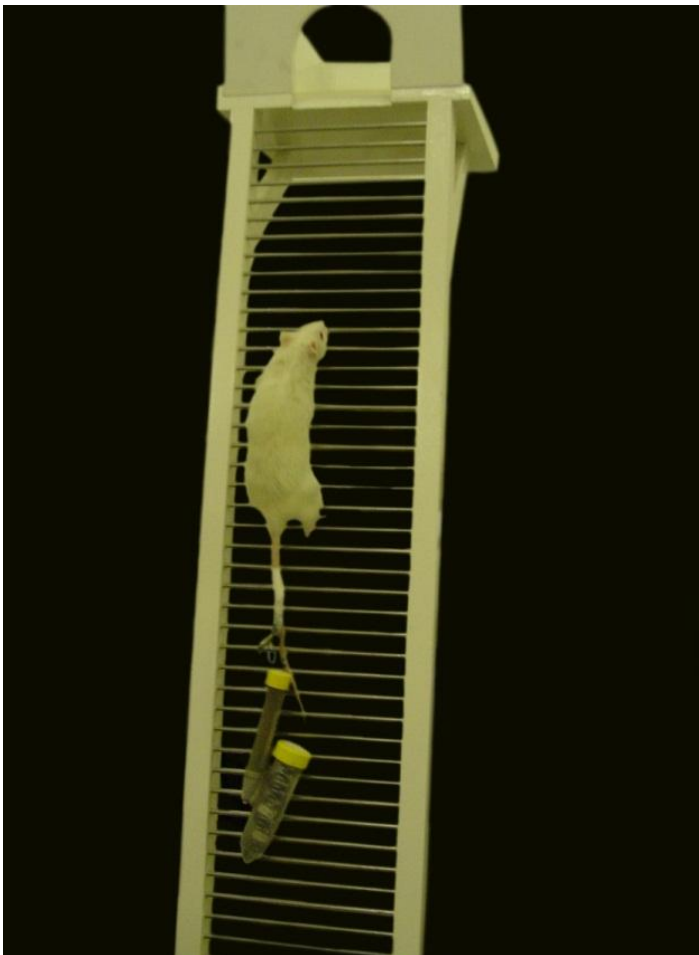


Figura 5: Treinamento de força.

O aparato foi fixado à cauda dos animais envolvendo a parcela proximal da mesma com uma tira autoadesiva (1,5cm, 3M Tartan). Os ratos foram colocados na parte inferior da escada e adaptados com o ato de escalar. Inicialmente, foram motivados a escalar aplicando-se em sua cauda um estímulo manual para iniciar o movimento. No topo da escada, encontra-se uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde o animal descansou por 120 segundos entre as séries. Este procedimento foi repetido até que os ratos voluntariamente subissem a escada três vezes consecutivas, sem o incentivo na cauda. Três dias seguintes à familiarização com a escada (dois dias de descanso e no terceiro dia de treinamento novamente), os grupos experimentais iniciaram o treinamento de força.

A primeira sessão de treinamento consistiu em escalar de quatro a oito escadas carregando progressivamente cargas mais pesadas. Na escalada inicial foi aplicado 75% do peso do corpo do animal. Após completar o carregamento desta carga com sucesso, um peso adicional de 30 gramas foi adicionado ao aparato. Este procedimento foi sucessivamente repetido até que a carga alcance um peso que não permita que o rato consiga escalar. Então, a maior carga carregada com sucesso até o topo da escada foi considerada a carga máxima dos ratos para aquela sessão. As sessões de treinos subseqüentes consistiram de quatro a nove escaladas. Durante as primeiras quatro escaladas, os ratos carregaram 50%, 75%, 90% e 100% de suas cargas máximas. Para as próximas escaladas, foi acrescido 30 gramas para cada escalada até que o rato obtivesse uma nova capacidade máxima de carregamento. Este treinamento foi repetido uma vez a cada três dias, (descanso de dois dias e no terceiro dia uma nova sessão de treinamento).

#### **4.5. Ganho de Massa Corporal**

A massa corporal dos animais foram mensuradas diariamente, e ao final do período experimental foi calculado o ganho de massa corporal segundo a equação abaixo:

$$\text{Ganho de Massa Corporal (g)} = \text{Massa Corporal Inicial (g)} - \text{Massa Corporal Final (g)}$$

#### 4.6. Consumo Alimentar, Ingestão Calórica e Eficiência Alimentar

O consumo alimentar diário foi calculado pela diferença de peso entre a ração ofertada e a sobra desta ração.

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

A ingestão calórica (kcal) foi feita através da contagem de calorias do consumo alimentar.

A eficiência alimentar foi calculada pela equação abaixo:

$$\text{Eficiência Alimentar (\%)} = \frac{\text{Ganho de Massa Corporal (g)}}{\text{Consumo Alimentar Total (g)}} \times 100$$

#### 4.7. Coleta de Sangue e Tecidos

Os animais foram sacrificados por decapitação, sendo os animais treinados sacrificados 48 horas após a última sessão de exercício. Após a decapitação, o sangue, os tecidos adiposos brancos RET, EPI, VIS, SUB, o tecido adiposo marrom interescapular (TAM) e fígado foram dissecados, pesados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80° C para posterior análise.

#### 4.8. Parâmetros Lipídicos

O plasma foi obtido por centrifugação sendo que, alíquotas desse plasma foram utilizadas para mensurar a concentração de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e triacilgliceróis. As determinações bioquímicas foram obtidas por métodos enzimáticos colorimétricos específicos no espectrofotômetro ultravioleta (modelo SP-220, Biospectro, Brasil), utilizando Kits específicos da marca Laborlab (Guarulhos, São Paulo - Brazil).



#### 4.9. Determinação da Área de Adipócitos

Após a separação dos tecidos, aproximadamente 100 mg de tecido adiposo retroperitoneal, epididimal e visceral foram removidos de cada depósito de gordura e colocados em solução salina, de forma a lavar e remover as gorduras livres. Em seguida, para a determinação do tamanho das células adiposas, os tecidos foram fixados em tampão colidina 0,2 M, contendo 1% de tetróxido de ósmio, em estufa a 37°C, por um período de 24 horas. As células foram lavadas e suspensas em solução salina morna e imediatamente retiradas e espalhadas em lâminas para posterior medida das áreas dos adipócitos (Hirsch & Gallian, 1968). A área de adipócitos foi mensurada em diferentes células (300 células) do mesmo tecido (EPI, RET e VIS) usando o software de análise de imagem com lente de 50 vezes (Image Pro Plus, KS-300, da Carl Zeiss) e expressa como  $\mu\text{m}^2$ .

#### 4.10. Conteúdo Lipídico dos Tecidos

Conforme método descrito por Stansbie *et al.*, (1976), foi coletado um grama dos tecidos adiposos brancos epididimal, retroperitoneal, visceral e subcutâneo e também do fígado. Cada amostra de tecido foi realizada em duplicata. Os tecidos foram colocados em tubos contendo 3 ml de hidróxido de potássio 30% os quais foram aquecidos em banho-maria a 70°C por 15 minutos para a digestão e saponificação. Em seguida, foi adicionado 3 ml de etanol absoluto permanecendo os tubos em banho-maria a 70 °C por mais 1 hora e 45 minutos, para a total hidrólise dos triglicerídeos, ésteres de colesterol e fosfolípidios. Posteriormente, os tubos foram resfriados e foram adicionados 2,5 ml de ácido sulfúrico 6N à mistura saponificada, os ácidos graxos totais e o colesterol livre foram extraídos por 3 lavagens sucessivas com éter de petróleo (8ml, 6ml e 4 ml respectivamente). O produto das extrações foi lavado com 2 ml de água destilada e em seguida transferido para frascos de cintilação que foram previamente pesados (peso inicial do frasco), e permaneceram em capela a temperatura ambiente até a total evaporação do éter de petróleo, sendo o frasco novamente pesado (peso final do frasco). O Percentual de Gordura dos Tecidos foi determinado através da seguinte equação:

$$\% \text{ Gordura} = \frac{[\text{Peso final do frasco (g)} - \text{Peso inicial do Frasco (g)}] \times 100}{\text{Peso da Amostra de Tecido utilizada (g)}}$$

#### **4.11. Quantificação da expressão gênica do receptor canabinoide (CB1) e PPAR $\gamma$**

As quantificações da expressão dos receptores canabinoide (CB1) e PPAR $\gamma$  foram realizadas pela quantificação do seu RNA mensageiro por qRT-PCR, no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar.

##### **4.11.1. Extração de RNA total do tecido adiposo visceral**

Para a extração do RNA foram homogenizados 100mg de tecido VIS com 1000 $\mu$ l de TRIzol<sup>®</sup> (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California) no homogenizador (Power Gen – Fisher Scientific 1000). As amostras foram centrifugadas (Eppendorf 5804R) por 1 min a velocidade de 12.000 rpm e descansaram por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente foram adicionados 200 $\mu$ l de clorofórmio (bromocloropropano RNase free), agitadas no VORTEX durante 15 segundos e descansaram 15min em temperatura ambiente. As amostras foram novamente centrifugadas durante 15 min., a velocidade 12000 rpm e temperatura de 4C<sup>o</sup>. Neste ponto ocorreu a separação das fases: aquosa=RNA, branco=DNA e rosa=proteínas. Foram transferidos 450 $\mu$ l da fase aquosa para um novo microtubo, foi adicionado 450 $\mu$ l de Isopropanol e as amostras descansaram durante 10 minutos a temperatura ambiente. Uma nova centrifugação foi realizada durante 10 min., em velocidade de 12000 rpm, onde ocorreu a formação do pellet. O sobrenadante foi descartado e foram adicionados 1000 $\mu$ l de etanol (75%) às amostras que foram novamente centrifugadas durante 5 min em velocidade de 7500 rpm. Esse passo foi realizado 2 vezes. O sobrenadante foi descartado. O pellet permaneceu em estufa à 37<sup>o</sup> C durante 5 minutos e depois foi dissolvido em 30 $\mu$ l de

água DEPC (dietilpirocarbonato - 0,1%). Esse material foi chamado de estoque e foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise.

#### 4.11.2. Quantificação do RNA total

A quantificação das amostras de RNA foi realizada em espectrofotômetro nanodrop (Laboratório de Biologia Molecular – departamento de Ciências Biológicas –UFSCar) , utilizando  $1\mu\text{l}$  do RNA. Foram obtidas as absorbâncias nos comprimentos de onda 260nm e 280nm, assim como a concentração da amostra. O grau de pureza do RNA foi determinado pelas razões  $A_{260}/A_{280}$  e  $A_{260}/A_{230}$  considerando-se adequados os valores entre 1,8 e 2,0 nas duas relações, respectivamente.

#### 4.11.3. Determinação da integridade do RNA

A integridade do RNA foi confirmada pela visualização, em luz ultravioleta, do padrão de eletroforese das bandas 28S e 18S do RNA ribossomal, em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio.

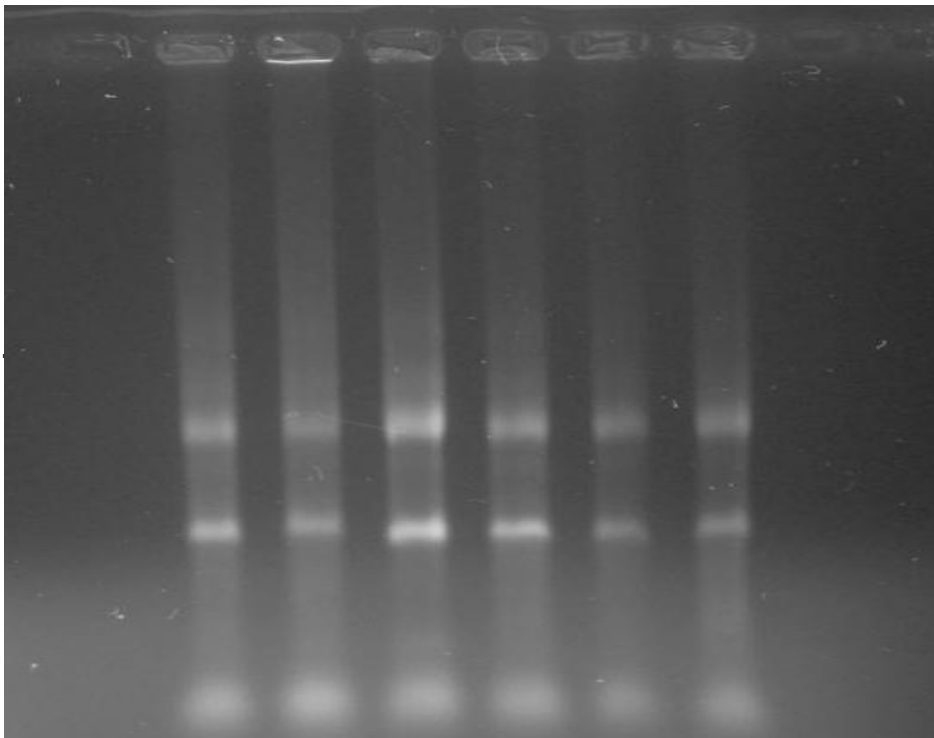


Figura 6: Gel de agarose mostrando a integridade do RNA.

As amostras de RNA total foram tratadas com DNase - Deoxyribonuclease I, Amplification Grade (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California). Ao RNA total (1µg), foi adicionada 1µL de solução tampão (10X DNase I Reaction Buffer), 1µL de enzima (DNase I, Amp Grade) e quantidade suficiente para (QSP) 10µL de água tratada com DEPC. As amostras foram mantidas por 15 minutos em temperatura ambiente. Logo após, foi adicionado 1µL de EDTA e as amostras permaneceram em banho seco a 65° C por 10 minutos.

Após o tratamento com DNase, as amostras receberam 0,5µL de primer Oligo (dT) 15 (Promega Corporation, Madison, WI USA) e permaneceram em banho seco a 70° C por 5 minutos.

A seguir foi adicionado:

- 2,5µL de M-MLV 5x tampão de reação (Promega Corporation, Madison, WI USA)
- 0,625µL dATP 10mM
- 0,625µL dCTP 10mM
- 0,625µL dGTP 10mM
- 0,625µL dTTP 10mM
- 0,5µL M-MLV RT (transcriptase reverse)

E as amostras foram incubadas por 60 minutos a 37°C e estocadas a -20° C.

#### **4.11.4. Reação em Cadeia da Polimerase – Tempo Real (PCR-RT)**

Foram utilizados para cada amostra (40ng/µL), em duplicata de cDNA os seguintes reagentes:

- 9,5µL de água DEPC
- 1,25µL primer forward
- 1,25µL primer reverse
- 0,5µL de cDNA
- 12,5µL SYBR® Green PCR (Promega Corporation, Madison, WI USA)

As amostras foram processadas no termociclador (Rotor- Gene, R 3000 Robertt Research) e os ciclos consistiram de 95°C por 10 minutos, seguidos de 40 ciclos de amplificação a 94°C por 15 segundos; T<sub>m</sub>°C (de acordo com cada primer) por 30 segundos; 72°C por 60 segundos.

As seqüências de primers utilizados foram obtidos no site do NCBI e as referências para cada primer é: CB1 - NM\_012784.4, PPAR $\gamma$ 2 - NM\_001145366.1 e GAPDH - NM\_017008.3.

Tabela 1: Seqüência dos primers utilizados.

| Gene            | Seqüência dos Primers |                               |
|-----------------|-----------------------|-------------------------------|
| GAPDH           | <i>Sense</i>          | GAT GCT GGT GCT GAG TAT GTC G |
|                 | <i>Antisense</i>      | GTG GTG CAG GAT GCA TTG CTG A |
| CB1             | <i>Sense</i>          | TGGAAGGCTCACAGCCACGC          |
|                 | <i>Antisense</i>      | GCTTGGTCAGGCCGGGTCAC          |
| PPAR $\gamma$ 2 | <i>Sense</i>          | AAGGGGCCTGGACCTCTGCTG         |
|                 | <i>Antisense</i>      | ATAAGGCGGGGACGCAGGCT          |

As temperaturas de anelamento ( $T_m$ ) dos primers foram previamente padronizadas. Os produtos específicos foram determinados como picos únicos por meio das curvas de MELT como mostra a figura 7.

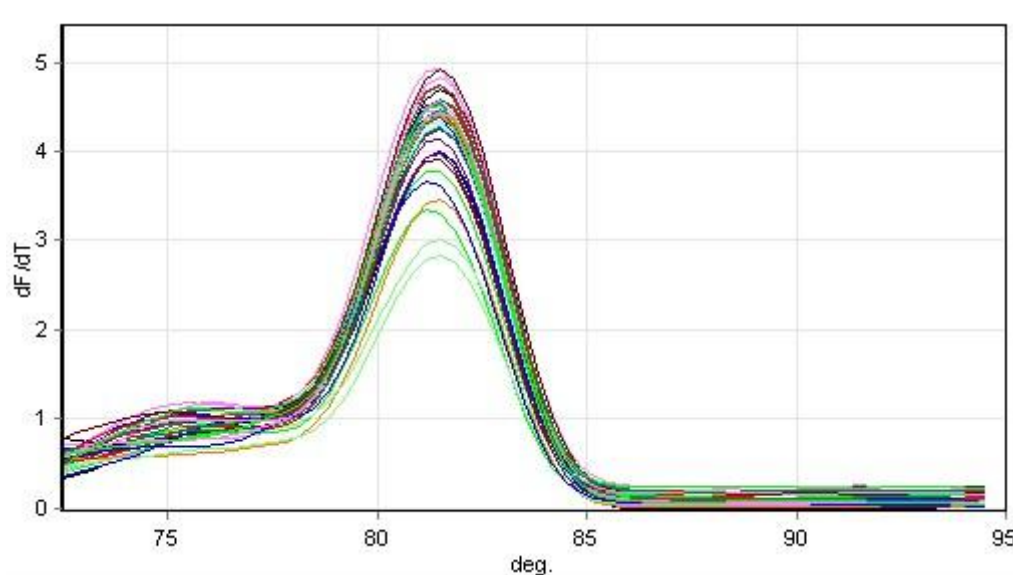


Figura 7: Curva de MELT dos ciclos do PCR-RT do gene para receptor CB1 no tecido adiposo visceral.

Os valores de Ct (Thresholdcycle) e as curvas de *melt* foram fornecidos pelo Software Rotor Gene – 6. O Ct é o ponto onde o sinal de fluorescência foi identificado pela primeira vez com o menor número de ciclos durante a fase exponencial da amplificação (figura 8).

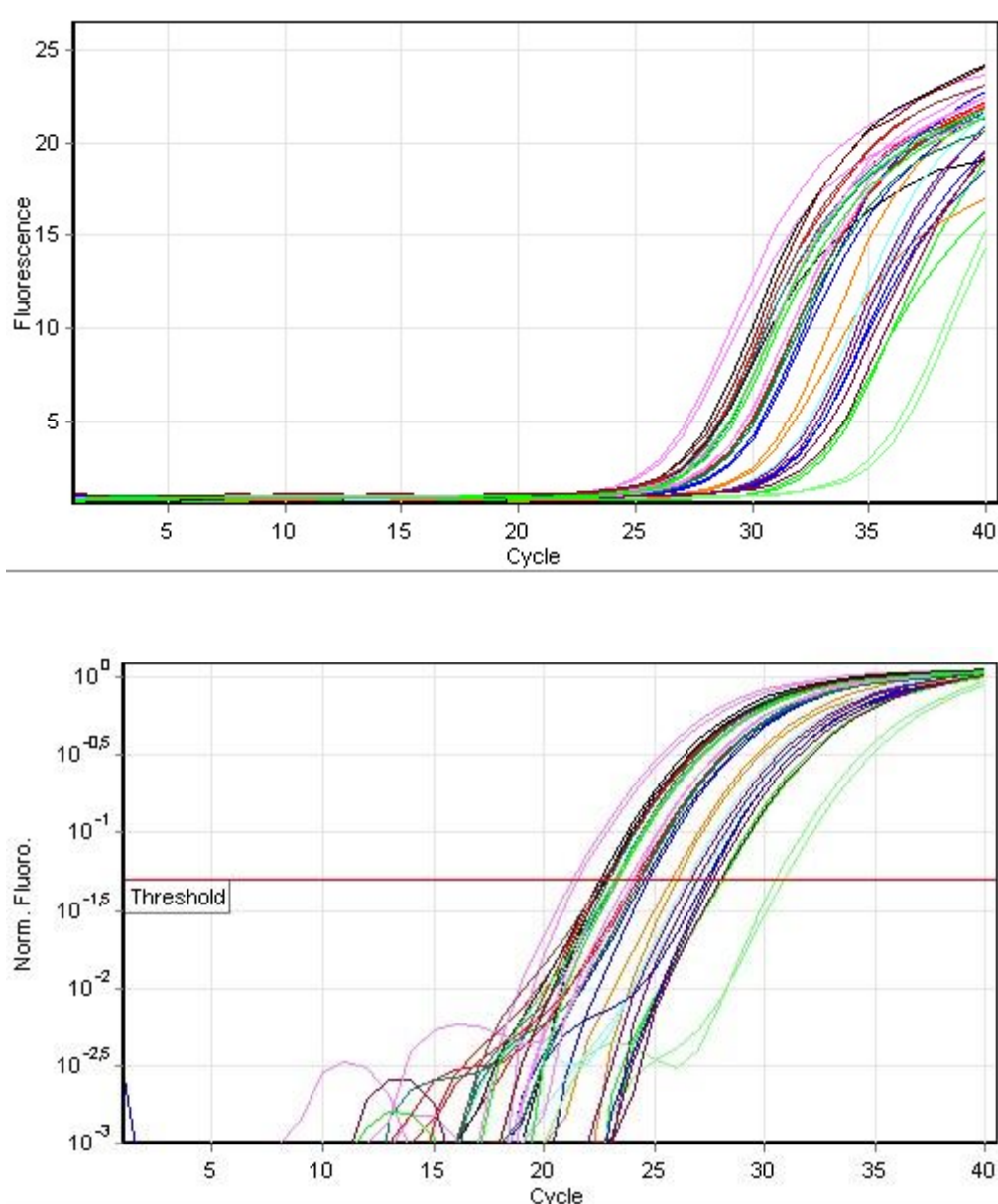


Figura 8: Curva de Amplificação dos ciclos do PCR-RT do gene para receptor CB1 no tecido adiposo visceral.

O nível de expressão comparativa de cada condição foi calculado pelo método de  $\Delta\Delta Ct$ . Depois de calculado a média dos Ct de cada gene (GAPDH, CB1 e PPAR- $\gamma$ ) foi realizado:

- $\Delta Ct$  (delta Ct) =  $Ct_{CB1} - Ct_{GAPDH}$  e  $Ct_{PPA-\gamma} - Ct_{GAPDH}$ , seguindo:
- Cálculo da média S: Média do  $\Delta Ct$ , seguindo:
- $\Delta\Delta CT$  (delta delta CT):  $\Delta CT - média S$

Os  $\Delta\Delta\text{CT}$  de todos os grupos (SH, NP, NH, EP e EH) foram calculados em relação ao grupo SP. O valor em UA (unidades arbitrárias) da expressão dos genes estudados foi calculada por  $2^{\Delta\Delta\text{CT}}$  (Livak e Schmittgen, 2001). Com os valores em UA utilizados para os testes estatísticos.

#### **4.12. Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de homocedasticidade (critério de Barlet). Foi utilizada a Anova-two-way para comparar as variáveis, levando-se em consideração dois fatores intervenientes (exercício e dieta). Anova one-way e teste-t para variáveis independentes foram utilizados quando necessários. Todos os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. Também foi aplicado o teste post-hoc de Fisher nos eventos de F ratio significativa ( $p < 0.05$ ). Todos os procedimentos estatísticos foram realizados pelo programa estatístico Statistica® 6.1 (Tulsa, OK, USA).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Ganho de Massa Corporal

Nas 3 primeiras semanas do experimento, nas quais os grupos receberam suas respectivas dietas, os animais que receberam a dieta hiperlipídica apresentaram maiores valores de ganho de massa corporal em relação aos animais que receberam dieta padrão, com  $p < 0,01$ .

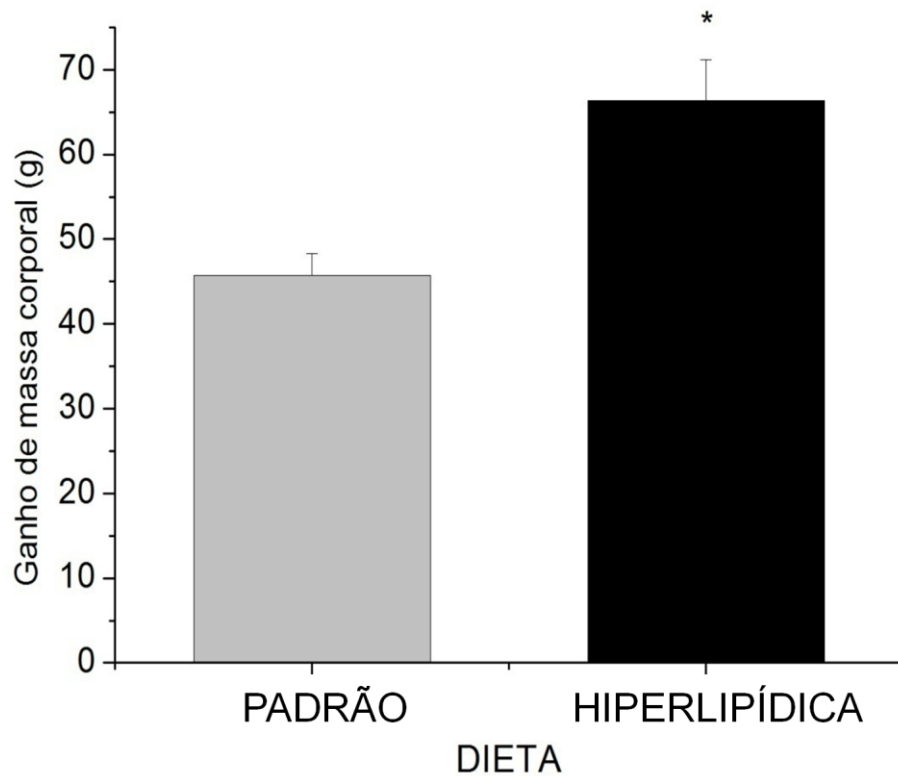


Figura 9: Ganho de massa corporal nas 3 primeiras semanas de dieta. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão. \*  $p \leq 0.05$ .



Após a segunda fase do experimento todos os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram valores maiores em relação aos grupos que foram alimentados com dieta padrão ( $p < 0,01$ ). Comparando os grupos sedentários e treinados, os grupos que realizaram treinamento em natação (NP e NH) exibiram valores menores no ganho de massa corporal com  $p = 0,003$  e  $p < 0,001$ , respectivamente. Entre os grupos treinados, tanto o grupo FP quanto FH tiveram maior ganho de massa corporal que os grupos que nadaram ( $p = 0,03$  e  $p = 0,01$ ).

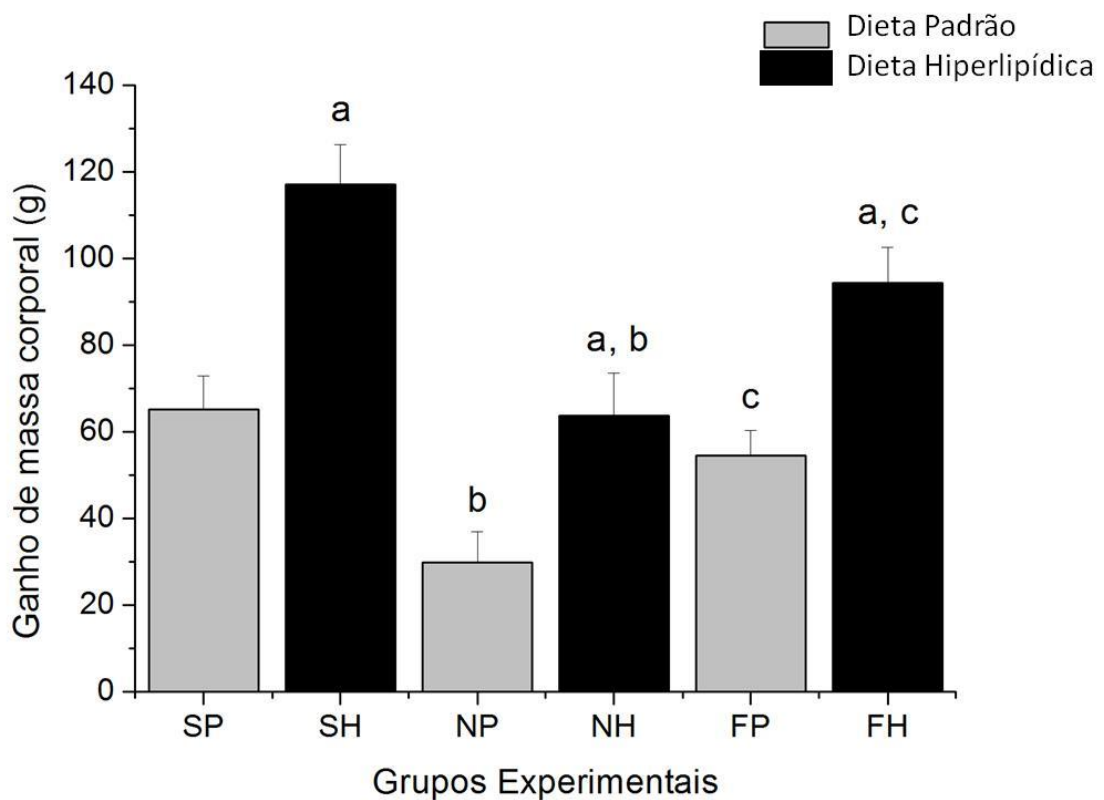


Figura 10: Ganho de massa corporal nas 9 semanas de dieta e treinamento. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão; <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

## 5.2. Consumo Alimentar Total, Ingestão Calórica Total e Eficiência Alimentar

Não houve diferenças estatísticas em relação ao consumo alimentar quando comparados os grupos sedentários (SP e SH) ( $p=0,34$ ). Já os grupos alimentados com dieta hiperlipídica e que realizaram exercício (NH e FH) apresentaram menor consumo alimentar quando comparados aos grupos alimentados com dieta padrão e exercício (NP e FP) ( $p<0,05$ ) respectivamente, bem como quando comparados ao grupo SH ( $p<0,05$ ). O grupo NH apresentou maior consumo alimentar que o grupo FH ( $p=0,002$ ).

Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica (SH, NH e FH) apresentaram maior ingestão calórica do que os grupos alimentados com dieta padrão (SP, NP e FP) (Tabela ;  $p<0,05$ ). Os grupos NH e FH apresentaram menor ingestão calórica quando comparados com o grupo SH ( $p=0,01$ ;  $p<0,001$ ).

Tabela 2: Efeitos do exercício e da dieta no consumo alimentar e ingestão calórica.

|           | Consumo alimentar<br>(g)         | Ingestão calórica<br>(Kcal)      |
|-----------|----------------------------------|----------------------------------|
| <b>SP</b> | 2348,20 ± 74,78                  | 9557,17 ± 304,37                 |
| <b>SH</b> | 2260 ± 69,70                     | 11571,2 ± 357,30 <sup>a</sup>    |
| <b>NP</b> | 2301 ± 63,36                     | 9368,73 ± 257,89                 |
| <b>NH</b> | 2041,77 ± 61,79 <sup>a,b</sup>   | 10453,90 ± 316,38 <sup>a,b</sup> |
| <b>FP</b> | 2232,40 ± 55,61                  | 9085,86 ± 226,37                 |
| <b>FH</b> | 1961,22 ± 63,49 <sup>a,b,c</sup> | 10041,45 ± 325,08 <sup>a,b</sup> |

Todos os valores estão descritos como média ± erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário alimentado com dieta padrão; SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

Nas 3 primeiras semanas do experimento, nas quais os grupos receberam suas respectivas dietas, a eficiência alimentar dos animais que receberam dieta hiperlipídica foi significativamente maior do que os animais que receberam dieta padrão, com  $p < 0,001$ .

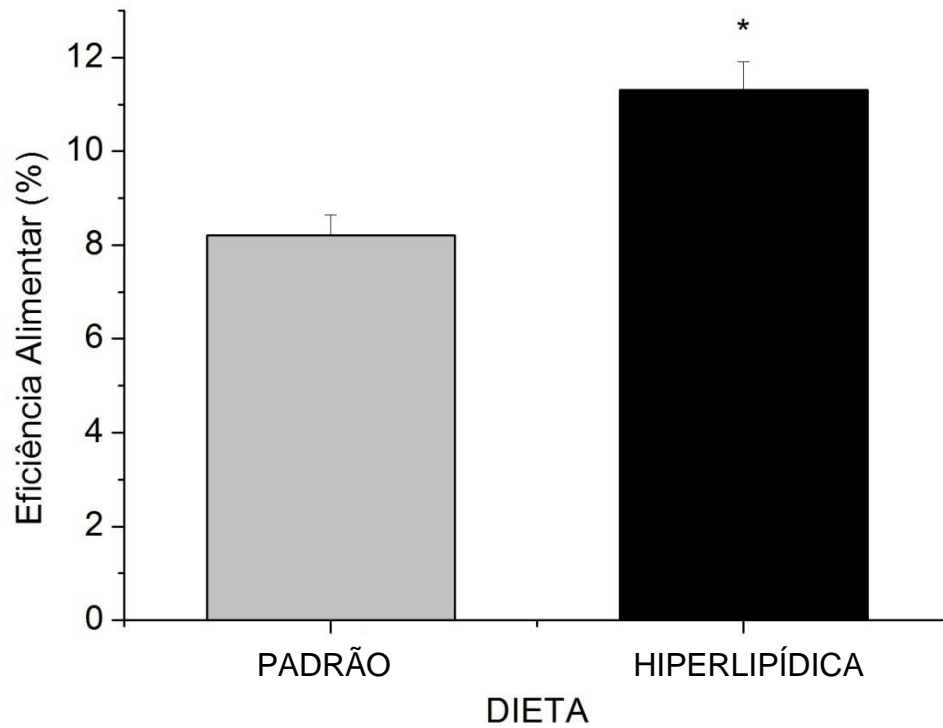


Figura 11: Eficiência alimentar nas 3 semanas de dieta. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão.  $p \leq 0,05$ .

Para a eficiência alimentar após 9 semanas todos os grupos alimentados com dieta hiperlipídica exibiram valores maiores que os grupos alimentados com dieta padrão ( $p < 0,001$ ). Os grupos submetidos a natação apresentaram menor eficiência alimentar que os grupos sedentários e treinados em força ( $p < 0,001$ ).

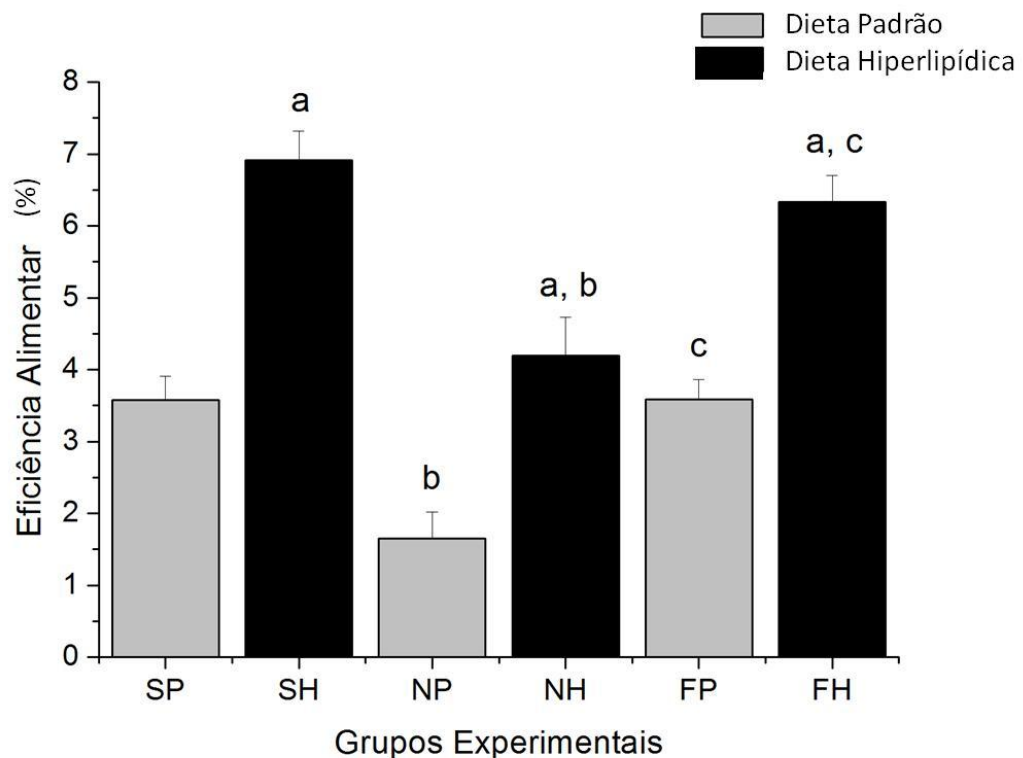


Figura 12: Eficiência alimentar nas 9 semanas de dieta e treinamento. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão; <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

### 5.3. Massa Relativa dos Tecidos

Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores massas relativas dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal, visceral e subcutâneo quando comparados aos grupos alimentados com dieta padrão ( $p < 0,05$ ). A massa relativa do tecido epididimal foi menor nos grupos NH ( $p = 0,03$ ) e FH ( $p = 0,04$ ) do que o grupo SH. Também o grupo NP mostrou valores menores de massa relativa do tecido adiposo epididimal que o grupo SP ( $p = 0,03$ ). No entanto, o grupo NH exibiu maiores valores de massa relativa do tecido adiposo visceral que os grupos SH ( $p = 0,009$ ) e FH ( $p < 0,001$ ).

Tabela 3: Efeitos do exercício e da dieta na massa relativa dos tecidos.

|           | EPI                | RET              | VIS                | SUB              | TAM               | FÍGADO           |
|-----------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|
| <b>SP</b> | 1,32 ± 0,11        | 1,21 ± 0,11      | 0,88 ± 0,05        | 0,68 ± 0,11      | 0,07 ± 0,005      | 2,73 ± 0,09      |
| <b>SH</b> | 2,63 ± 0,22<br>a   | 2,47 ± 0,19<br>a | 1,86 ± 0,19<br>a   | 1,02 ± 0,09<br>a | 0,09 ± 0,005      | 2,71 ± 0,09      |
| <b>NP</b> | 0,85 ± 0,07<br>b   | 0,72 ± 0,06      | 0,80 ± 0,05        | 0,68 ± 0,05      | 0,18 ± 0,012<br>b | 2,84 ± 0,06      |
| <b>NH</b> | 2,16 ± 0,18<br>a,b | 2,66 ± 0,29<br>a | 2,42 ± 0,21<br>a,b | 1,19 ± 0,12<br>a | 0,20 ± 0,015<br>b | 2,54 ± 0,06<br>a |
| <b>FP</b> | 1,18 ± 0,10        | 1,13 ± 0,10      | 0,84 ± 0,07        | 0,81 ± 0,04      | 0,08 ± 0,004<br>c | 2,52 ± 0,06<br>c |
| <b>FH</b> | 2,18 ± 0,17<br>a,b | 2,36 ± 0,18<br>a | 1,61 ± 0,18<br>a,c | 1,26 ± 0,08<br>a | 0,10 ± 0,009<br>c | 2,44 ± 0,06<br>b |

Massa relativa de tecido adiposo (g/100 g de massa corporal). Todos os valores estão descritos como média ± erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  comparando grupos alimentados com dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  comparando natação x treinamento de força ( $n = 10$  em cada grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica; EPI, epididimal; RET, retroperitoneal; VISC, visceral; SUB, subcutâneo; TAM, tecido adiposo marrom.

#### 5.4. Área de Adipócitos

O grupo SH apresentou médias de área de adipócitos maiores dos tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e visceral quando comparados ao grupo SP ( $p < 0,001$ ). Resultados similares foram observados quando comparamos os grupos de dieta hiperlipídica e exercício com os seus respectivos grupos de dieta padrão e exercício ( $p < 0,001$ ). Além disso, os grupos treinados em natação apresentaram menores valores de áreas de adipócitos, em todos os tecidos, quando comparados aos grupos sedentários ( $p < 0,001$ ), com exceção da área de adipócitos do tecido adiposo visceral no grupo NH. Já o grupo FH mostrou valores maiores de área de adipócitos quando comparados ao grupo FP ( $p < 0,005$ ). Com exceção das áreas dos tecidos retroperitoneal e visceral do grupo FH, os valores das áreas de todos os outros tecidos foram menores nos grupos sedentários (SP e SH) e treinados em natação (NP e NH) do que nos grupos treinados em força (FP e FH;  $p < 0,001$ ).

Tabela 4: Área de adipócitos dos tecidos epididimal, retroperitoneal e visceral.

|           | EPI $\mu\text{m}^2$                  | RET $\mu\text{m}^2$                    | VISC $\mu\text{m}^2$                   |
|-----------|--------------------------------------|--|--|
| <b>SP</b> | 8843,79 $\pm$ 116,45                 | 14907,79 $\pm$ 164,76                  | 6866,48 $\pm$ 96,17                    |
| <b>SH</b> | 21920,38 $\pm$ 211,39 <sup>a</sup>   | 29939,00 $\pm$ 158,12 <sup>a</sup>     | 12524,88 $\pm$ 153,70 <sup>a</sup>     |
| <b>NP</b> | 8440,04 $\pm$ 97,37 <sup>b</sup>     | 11408,12 $\pm$ 134,66 <sup>b</sup>     | 6147,76 $\pm$ 96,28 <sup>b</sup>       |
| <b>NH</b> | 21197,49 $\pm$ 282,10 <sup>a,b</sup> | 28666,48 $\pm$ 272,03 <sup>a,b</sup>   | 16618,87 $\pm$ 264,00 <sup>a,b</sup>   |
| <b>FP</b> | 15436,38 $\pm$ 160,00 <sup>b,c</sup> | 18408,13 $\pm$ 136,27 <sup>b,c</sup>   | 8597,10 $\pm$ 120,75 <sup>b,c</sup>    |
| <b>FH</b> | 23580 $\pm$ 207,19 <sup>a,b,c</sup>  | 25373,95 $\pm$ 280,45 <sup>a,b,c</sup> | 11147,31 $\pm$ 166,54 <sup>a,b,c</sup> |

Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados com dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de força ( $n = 5$  em cada grupo). EPI, epididimal; RET, retroperitoneal; VISC, visceral. SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

## 5.5. Conteúdo de Lipídios dos Tecidos Adiposos e Fígado (% de gordura)

### 5.5.1. Tecido Adiposo Epididimal

Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica, com exceção do grupo FH, apresentaram maiores conteúdos lipídicos em relação aos grupos alimentados com dieta padrão ( $p=0,002$ ). Quando comparados sedentários e treinados o grupo FH apresentou valores menores em relação ao seu respectivo grupo SH ( $p=0,001$ ), como também em relação ao grupo NH ( $p=0,002$ ).

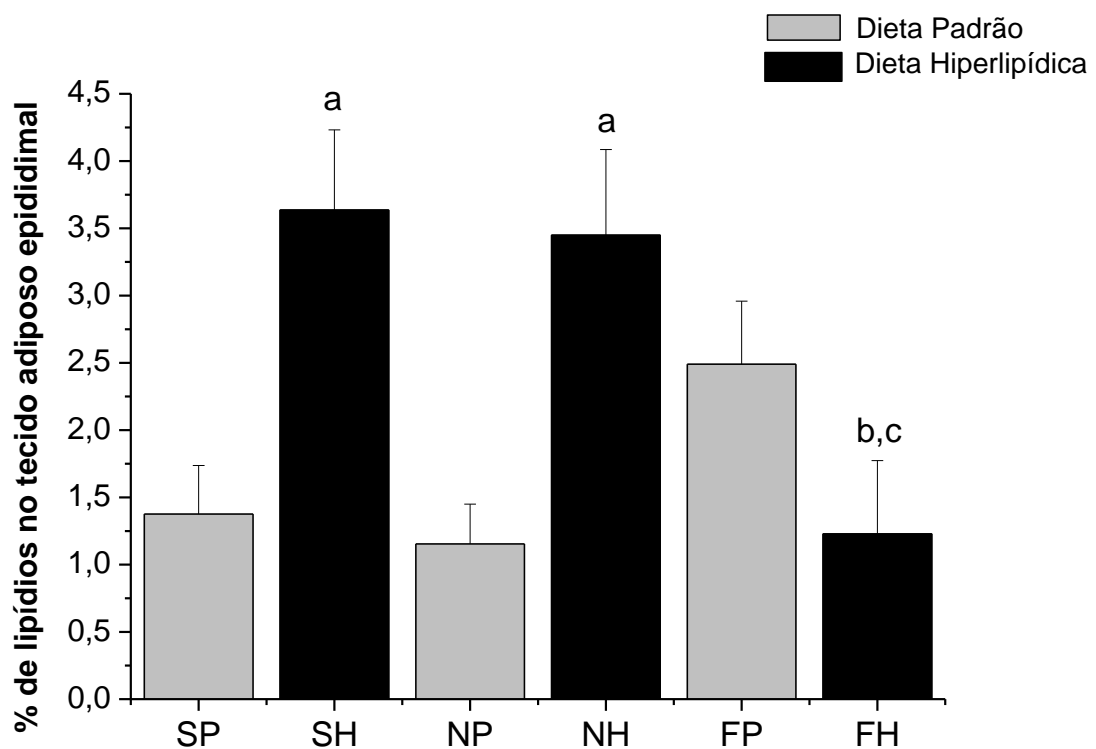


Figura 13: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Epididimal. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

### 5.5.2. Tecido Adiposo Retroperitoneal

Para o tecido adiposo retroperitoneal, apenas o grupo SH apresentou valores maiores em relação ao grupo SP ( $p=0,001$ ). Quando comparamos os sedentários e treinados, os grupos que realizaram treinamento em natação (NP e NH) apresentaram valores menores de conteúdo lipídico quando comparados aos grupos sedentários (SP e NP), com  $p=0,01$  e  $p<0,001$ ) respectivamente, assim como quando comparados com os grupos que treinam força (FP e FH),  $p<0,001$ .

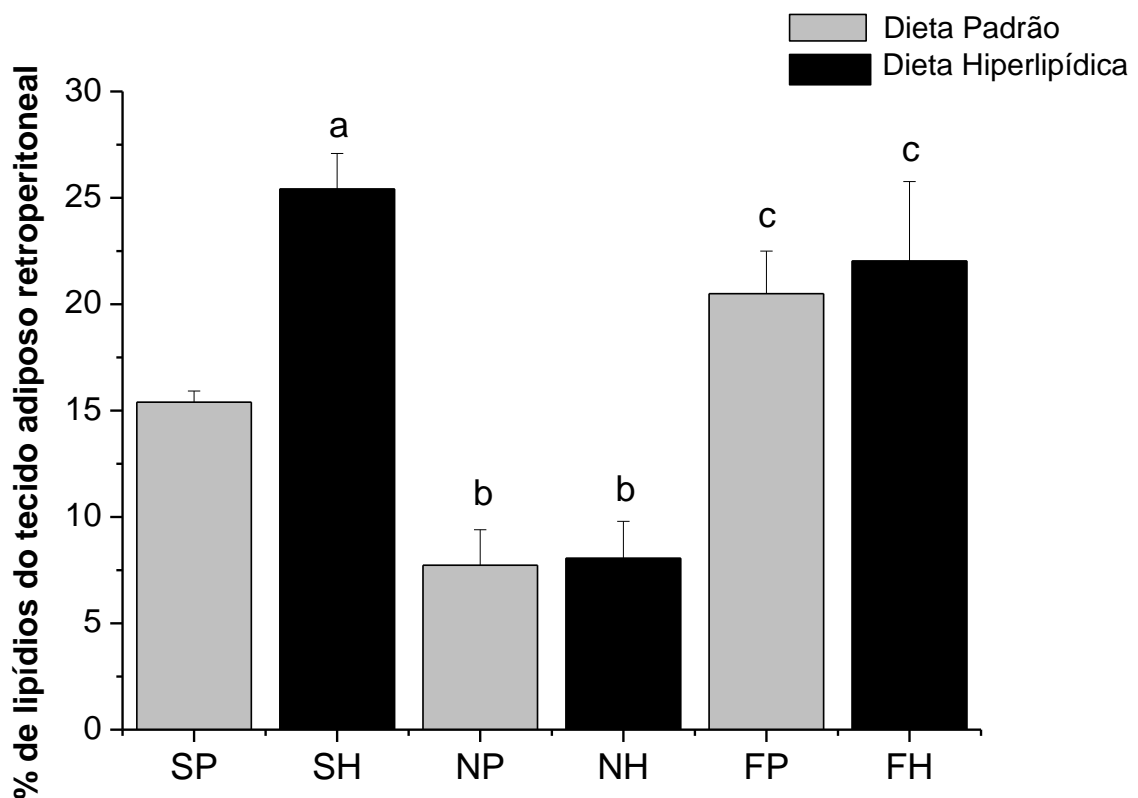


Figura 14: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Retroperitoneal. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.



### 5.5.3. Tecido Adiposo Visceral

Todos os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram valores maiores de conteúdo lipídico em relação aos grupos alimentados com dieta padrão ( $p < 0,01$ ). Quando comparados os grupos sedentários e treinados, apenas o NP apresentou valores menores de conteúdo lipídico, em relação ao seu respectivo grupo SP ( $p = 0,008$ ). Entre os grupos treinados o grupo FP apresentou valores maiores em relação ao seu respectivo grupo NP ( $p = 0,03$ ).

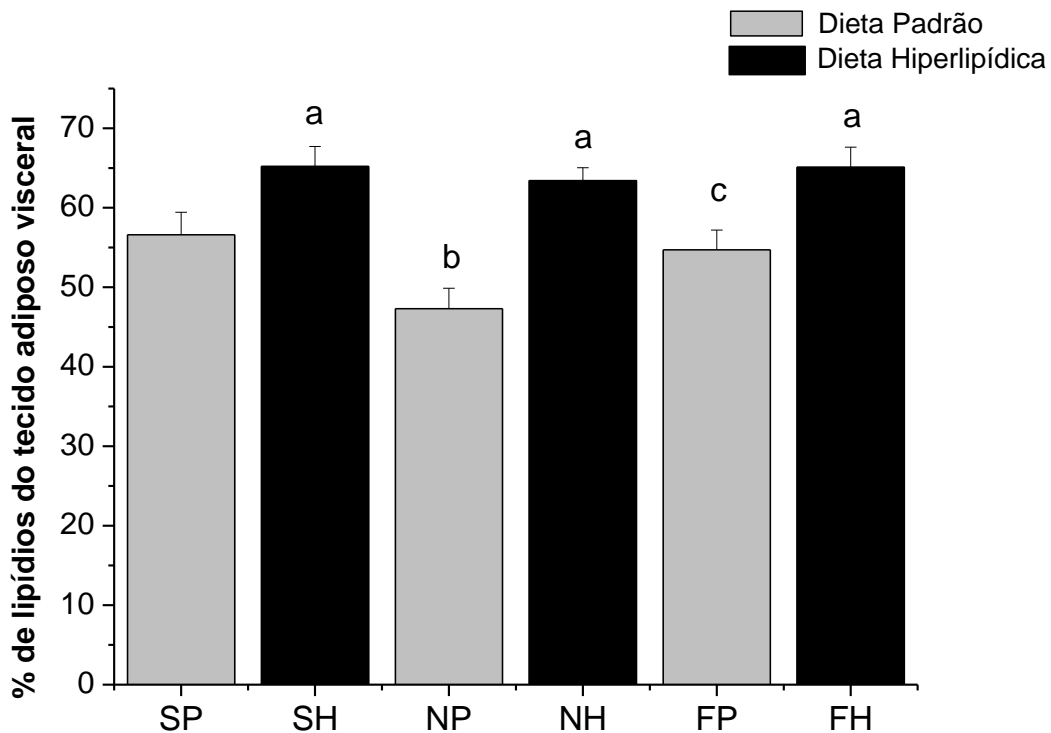


Figura 15: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Visceral. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

#### 5.5.4. Tecido Adiposo Subcutâneo

Para o tecido adiposo subcutâneo, apenas o grupo SH apresentou valores maiores em relação ao seu respectivo grupo SP com  $p=0,002$ . Entre os grupos sedentários e treinados, o grupo NH apresentou valores de conteúdo lipídico menores quando comparado ao grupo SH ( $p=0,04$ ). E não houve diferença no conteúdo lipídico entre os grupos treinados em natação e força para o tecido adiposo subcutâneo.

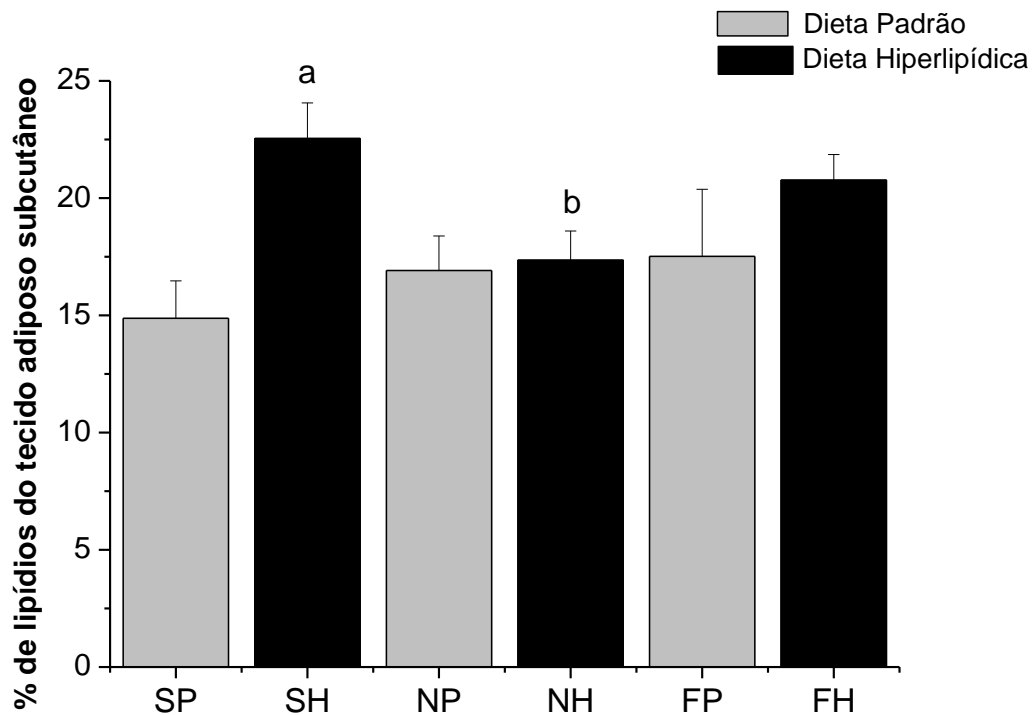


Figura 16: Conteúdo de Lipídios do Tecido Adiposo Subcutâneo. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

### 5.5.5. Fígado

Dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, o SH e FH apresentaram valores maiores de conteúdo lipídico no fígado em relação aos seus respectivos grupos alimentados com dieta padrão, SP ( $p < 0,001$ ) e FP ( $p = 0,02$ ). Quando comparados os grupos sedentários e treinados, os grupos alimentados com dieta hiperlipídica e exercitados (NH e FH) apresentaram valores menores de conteúdo lipídico quando comparados ao grupo SH ( $p < 0,001$ ). Também não houve diferença no conteúdo lipídico do fígado entre os grupos treinados em natação e força.

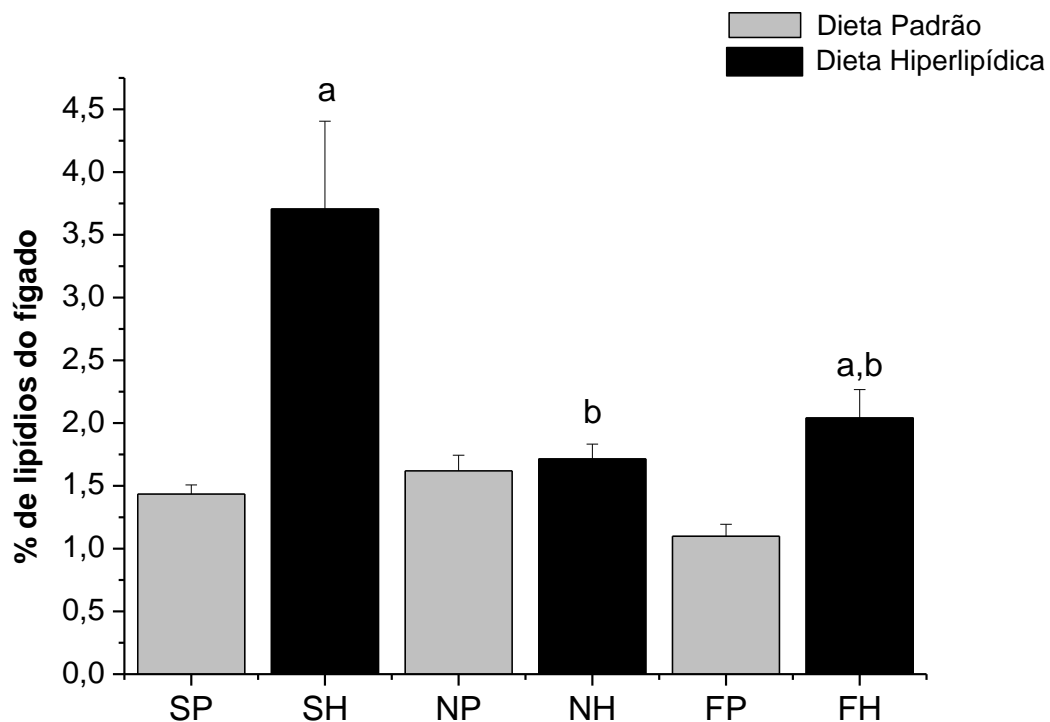


Figura 17: Conteúdo de Lipídios do Fígado. Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

## 5.6. Parâmetros Lipídicos

Os grupos treinados apresentaram valores menores de colesterol total e TGL e valores maiores de HDL quando comparados aos grupos sedentários ( $p < 0,05$ ), com exceção do grupo NH, que apresentou maiores valores de TGL quando comparado ao grupo NP ( $p = 0,001$ ). Entre os grupos sedentários, o grupo SH apresentou maiores valores de TGL que o grupo SP ( $p = 0,01$ ). Além disso, o grupo NH exibiu maiores valores de colesterol total que o grupo NP ( $p = 0,02$ ). Quando comparamos os grupos treinados, o grupo NP apresentou menores valores de colesterol total que o grupo FP ( $p = 0,02$ ). Já o grupo NH mostrou valores de HDL maiores que o grupo NP ( $p = 0,04$ ) e FH ( $p < 0,001$ ).

Tabela 5: Concentração de Colesterol total, HDL e Triacilgliceróis.

|           | <b>Colesterol Total</b><br><b>(mg/dl)</b> | <b>HDL</b><br><b>(mg/dl)</b> | <b>TGL</b><br><b>(mg/dl)</b> |
|-----------|---|------------------------------|------------------------------|
| <b>SP</b> | 51,05 ± 3,06                              | 13,85 ± 0,68                 | 73,66 ± 4,22                 |
| <b>SH</b> | 57,83 ± 2,34                              | 13,77 ± 0,66                 | 88,94 ± 6,71 <sup>a</sup>    |
| <b>NP</b> | 39,61 ± 1,36 <sup>b</sup>                 | 15,85 ± 1,21 <sup>b</sup>    | 62,72 ± 4,30 <sup>b</sup>    |
| <b>NH</b> | 46,94 ± 4,22 <sup>a,b</sup>               | 19,85 ± 0,85 <sup>a,b</sup>  | 87,83 ± 6,44                 |
| <b>FP</b> | 48,22 ± 1,62 <sup>b,c</sup>               | 18,69 ± 0,62 <sup>b</sup>    | 65,27 ± 4,32 <sup>b</sup>    |
| <b>FH</b> | 47,22 ± 2,41 <sup>b</sup>                 | 17,87 ± 1,01 <sup>b,c</sup>  | 66,94 ± 5,15 <sup>b,c</sup>  |

Todos os valores estão descritos como média ± erro padrão. <sup>a</sup>  $p \leq 0,05$  comparando grupos alimentados com dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0,05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0,05$  comparando natação x treinamento de força ( $n = 10$  em cada grupo); HDL, lipoproteína de alta densidade; TGL, triacilgliceróis. SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

### 5.7. Expressão Gênica de Receptor Canabinóide (CB1) e Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ )

O grupo sedentário e alimentado com dieta hiperlipídica (SH) apresentou maiores valores na expressão do receptor CB1 comparado ao grupo sedentário e alimentado com dieta padrão  $p=0,001$  (SP). Quando comparamos os grupos treinados e sedentários, os grupos que realizaram exercício tanto em natação quanto em força apresentaram valores menores que seu respectivo grupo sedentário (SH) com  $p=0,01$ . Porém a expressão de PPAR $\gamma$  não houve diferenças significativas entre os grupos.

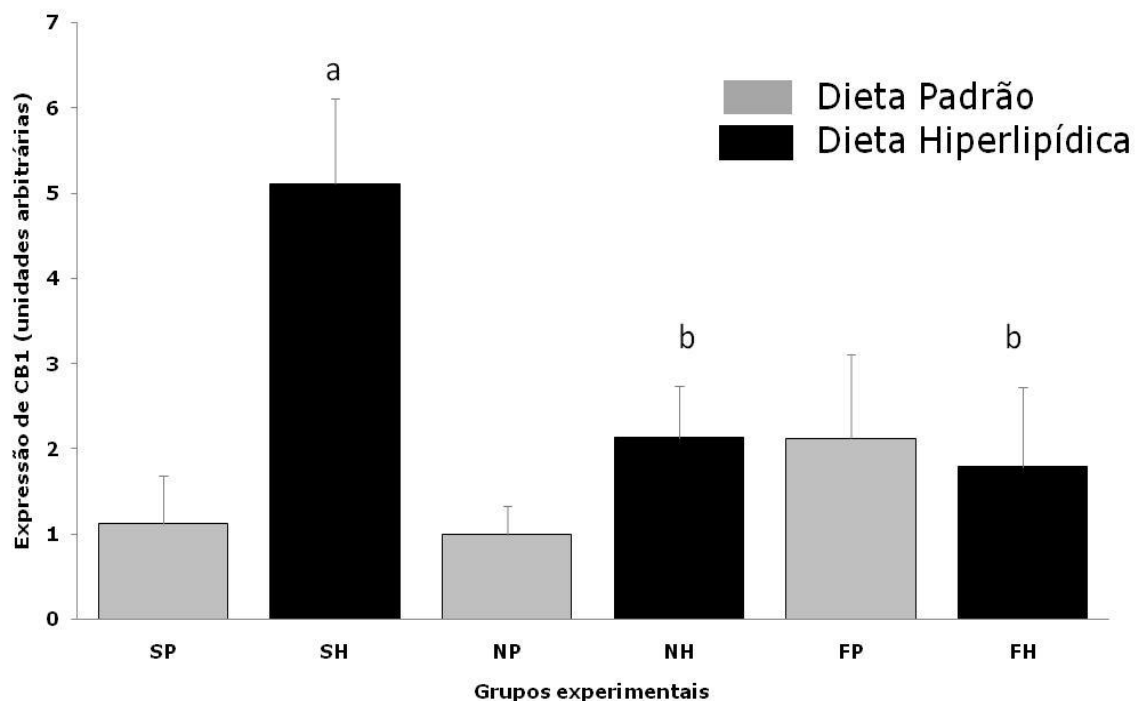


Figura 1818: Expressão gênica do receptor canabinóide (CB1). Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

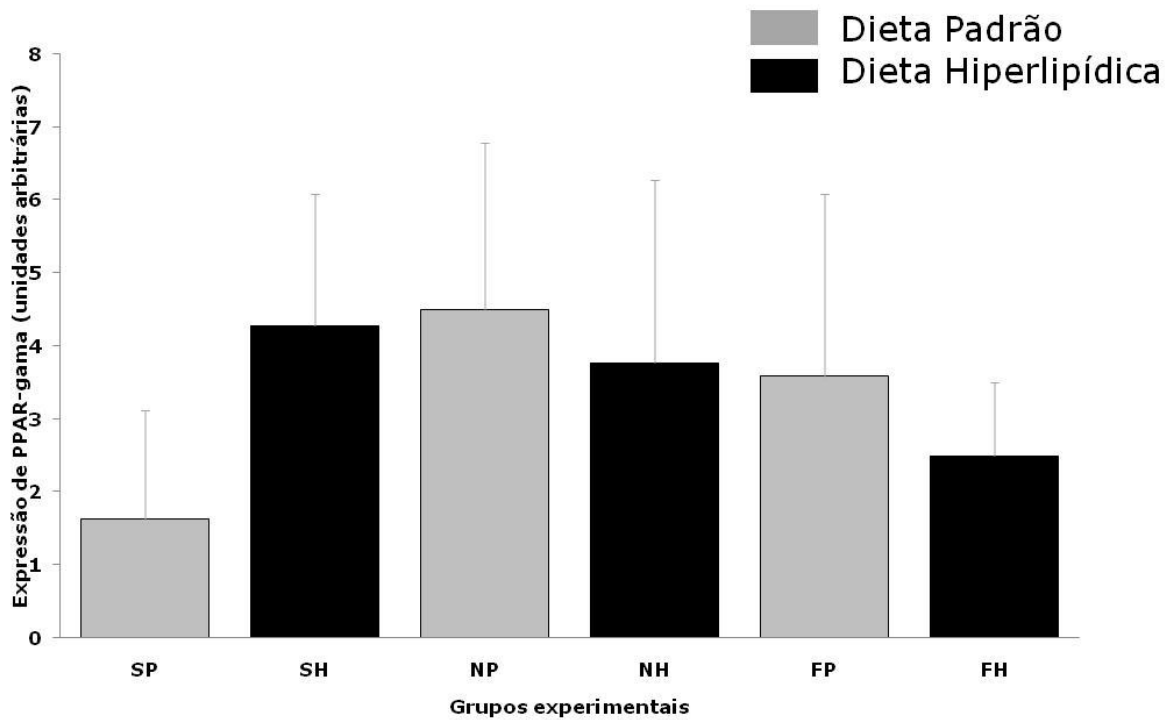


Figura 1919: Expressão gênica dos Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR $\gamma$ ). Todos os valores estão descritos como média  $\pm$  erro padrão <sup>a</sup>  $p \leq 0.05$  comparando grupos alimentados de dieta padrão x dieta hiperlipídica; <sup>b</sup>  $p \leq 0.05$  comparando sedentários x treinados; <sup>c</sup>  $p \leq 0.05$  comparando natação x treinamento de escada ( $n = 10$  por grupo). SP, sedentário + dieta padrão; SH, sedentário + dieta hiperlipídica; NP, treinado em natação + dieta padrão; NH, treinado em natação + dieta hiperlipídica; FP, treinado em força + dieta padrão; FH, treinado em força + dieta hiperlipídica.

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que tanto o treinamento de natação quanto o treinamento de força foram capazes de prevenir os efeitos deletérios da dieta hiperlipídica em ratos. Além disso, este estudo contribuiu com novos achados no que se refere aos efeitos de diferentes modalidades de treinamento em animais magros e obesos. O treinamento de força de alta intensidade e curta duração, assim como o treinamento de natação de intensidade moderada e longa duração foram efetivos no controle do ganho de massa corporal, na promoção de efeitos benéficos no perfil lipídico, diminuição do conteúdo lipídico dos tecidos, principalmente do fígado, além de ser efetivo no controle do sistema endocanabinoide em animais alimentado com dieta palatável rica em gorduras.

Na primeira fase do experimento (3 semanas), a dieta hiperlipídica mostrou forte influência no ganho de massa corporal dos animais. Estudos prévios do nosso laboratório também demonstraram maior ganho de massa corporal, aumento do tecido adiposo e alterações no perfil lipídico de ratos, para o mesmo período em animais tratados com a mesma dieta hiperlipídica (Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2008). Outros estudos corroboram com estes achados, confirmando que apenas algumas semanas de consumo de dieta rica em lipídios são suficientes para induzir um aumento significativo de massa corporal, acúmulo de gordura e alterações no perfil lipídico (Estadella *et al.*, 2004; Bradley *et al.*, 2008; Gollisch *et al.*, 2009).

Após a segunda fase (dieta + exercício) os grupos que receberam dieta hiperlipídica continuaram apresentando maior ganho de massa corporal em relação aos grupos que receberam dieta padrão, indicando que o excesso de gorduras e calorias levaram a esse ganho. No entanto, os grupos treinados em natação (NP e NH) apresentaram menor ganho de massa corporal quando comparados aos grupos sedentários e aos grupos treinados em força, indicando que o treinamento de intensidade moderada e longa duração foi eficiente para prevenir o aumento do ganho de massa corporal.

Observamos que todos os animais alimentados com dieta hiperlipídica tiveram maior ingestão calórica, mesmo apresentando um consumo alimentar menor, e que todos os grupos treinados, tanto em natação quanto em força, apresentaram menor consumo alimentar e menor consumo calórico. Todos os

grupos alimentados com dieta hiperlipídica exibiram maior EA, no entanto os grupos treinados em natação apresentaram menor eficiência alimentar em relação aos grupos sedentários e de treinamento em força, o que também foi encontrado em estudos anteriores (Burneiko *et al.*, 2006; Sene-Fiorese *et al.*, 2008). A maior ingestão calórica por parte dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, se deve ao maior valor calórico de tal dieta comparada a padrão, 5,12 kcal/g e 4,07kcal/g, respectivamente. A redução no consumo alimentar talvez possa ser explicado pelo fato de que a dieta hiperlipídica aumenta a secreção de colecistoquinina, a qual estimula a liberação de enzimas pancreáticas, responsáveis pelo aumento do tempo de saciedade e redução do consumo alimentar (Washington *et al.*, 2011). Também outros estudos mostram que os ratos são sensíveis ao conteúdo energético e ao alto teor de gordura da dieta, sendo capazes de controlar a ingestão alimentar devido a sensação de saciedade (Himaya *et al.*, 1997; Kretschmer *et al.*, 2005).

Quanto a EA, nossos resultados corroboram com o estudos de Roberts *et al.*, (2002;) nos quais os grupos alimentados com dieta hiperlipídica também apresentam maior EA comparado aos grupos alimentados com dieta padrão. A eficiência alimentar é um indicador metabólico que mostra quanto do consumo alimentar foi adicionado ao peso corporal. Assim os maiores valores de EA mostrados pelos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, apesar dos menores valores de consumo alimentar, correspondem aos maiores ganhos de massa corporal para esses grupos. Mesmo assim, a associação do gasto energético, devido ao exercício, e a diminuição do consumo alimentar podem ter contribuído para o menor ganho de massa corporal nos grupos treinados e alimentados com a dieta hiperlipídica quando comparados ao respectivo grupo sedentário.

A dieta rica em gorduras também promoveu aumento significativo no peso relativo e na área de adipócitos de todos os tecidos adiposos avaliados. Outros estudos também encontraram resultados semelhantes aos nossos (Marcassus *et al.*, 2003; Estadella *et al.*, 2004; Guerra *et al.*, 2007;). Sampey *et al.*, (2011), por exemplo, observou que a dieta hiperlipídica triplicou o peso dos depósitos de gordura comparados aos controles. É conhecido que a dieta hiperlipídica aumenta a atividade da lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo visceral (Lewis *et al.*, 2002). A LPL é responsável por hidrolisar TGL das lipoproteínas plasmáticas, principalmente quilomícrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), em ácidos graxos para posterior deposição nos adipócitos, controlando o



armazenamento de lipídeos no tecido adiposo (Dâmaso, 2001). Provavelmente isso tenha ocorrido em nosso estudo, explicando a área de adipócitos aumentada do tecido adiposo visceral e talvez para os outros tecidos adiposos, com conseqüente aumento do peso desses tecidos. Também nossos resultados de eficiência alimentar aumentada devido a dieta hiperlipídica podem ter colaborado com o aumento da área de adipócitos, já que a eficiência com que os lipídios são estocados é alta.

Os dois tipos de treinamento foram eficientes para diminuir o peso relativo do tecido adiposo epididimal nos animais alimentados com dieta hiperlipídica. Já o treinamento de natação aumentou o peso relativo do TAM, independentemente das dietas. Dados similares foram encontrados por Xu *et al.*, (2011), o qual verificou além do aumento do peso do TAM, também aumento das células progenitoras dos adipócitos marrons, aumento na expressão de genes específicos para esses adipócitos e aumento da UCP1, o que leva ao aumento do processo de fosforilação oxidativa e a dissipação de energia em forma de calor. Esses dados sugerem que o exercício pode levar a uma maior funcionalidade do tecido adiposo marrom, já que é considerado um tecido termogênico, responsável pela geração rápida de calor, e que é estimulado pela administração de hormônio da tireóide, pelo exercício através da estimulação do sistema nervoso simpático, pelo frio, ingestão alimentar e pela leptina (Symonds *et al.*, 2003; Sell *et al.*, 2004; Westerterp, 2004).

O treinamento em natação não reduziu a área de adipócitos do tecido adiposo visceral. Estes achados também são semelhantes com os estudos de Sene-Fiorese *et al.*, (2008) e Gollisch *et al.*, (2009), que não observaram redução no peso relativo, como também na área de adipócitos do tecido adiposo visceral após várias semanas de treinamento aeróbio contínuo em animais que se alimentavam com dieta hiperlipídica. Estes resultados sugerem uma maior mobilização de ácidos graxos livres (AGL) por outros tecidos adiposos em detrimento do tecido adiposo visceral durante o exercício de natação. Uma explicação para estes resultados pode ser o tempo de exercício contínuo (60min), já que Sene-Fiorese *et al.*, (2008) também observou que o exercício contínuo, porém 90 minutos, também não apresentou redução no peso do tecido adiposo visceral. Talvez o exercício contínuo com essas durações não sejam capazes de mobilizar os AGL de tal tecido.

Outra explicação talvez seja a carga utilizada no treinamento (5% da massa corporal dos ratos), considerada o ponto de transição entre o metabolismo

aeróbico e anaeróbico em ratos, segundo Gobatto *et al.*, (2001). Essa intensidade de exercício coincide com o aumento nos níveis de catecolaminas (Simões *et al.*, 2003). O tecido adiposo visceral é muito sensível às catecolaminas por apresentar maior número de receptores alfa e beta adrenérgicos (Hansen *et al.*, 2007). Dessa maneira, é possível que a carga utilizada pelos ratos obesos durante a natação não tenha sido suficiente para promover aumento significativo nos níveis de catecolaminas, resultando em uma menor mobilização dos lipídeos provenientes do tecido adiposo visceral durante o exercício de natação, já que recentemente, Araújo *et al.* (2009) demonstraram que a carga correspondente à máxima fase estável de lactato (padrão-ouro para a identificação do limiar anaeróbico) em ratos obesos é de 6% da massa corporal de ratos e não 5% como usamos. Assim, parece que o tempo e a carga utilizada no treinamento foram limitações para este estudo quanto ao treinamento em natação.

Estudos prévios demonstraram a capacidade da dieta rica em gorduras levar a esteatose hepática não alcoólica caracterizada principalmente pelo acúmulo de gordura no fígado, devido à diminuição na oxidação das gorduras neste tecido, ou pela redução na exportação dos triacilgliceróis (TG) pela lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) à partir do próprio fígado (Bravo *et al.*, 2011; Stanton *et al.*, 2011). Nossos achados corroboram com tais estudos, mostrando o aumento do conteúdo lipídico no fígado, como também nos tecidos adiposos. Em estudo de Lladó *et al.*, (2002), ratos alimentados com dieta hiperlipídica durante 15 dias apresentaram maior conteúdo lipídico nos tecidos adiposos, e os autores demonstraram que esse aumento foi devido a redução da atividade lipolítica nestes tecidos. Talvez esses achados possam explicar o aumento do conteúdo lipídico e peso relativo dos tecidos adiposos do nosso estudo.

No entanto, os dois tipos de treinamentos foram eficientes para diminuir a gordura do fígado. Além disso, o treinamento em natação foi capaz de diminuir o conteúdo lipídico do tecido adiposo retroperitoneal, o que é condizente com os resultados de área de adipócitos, e também do tecido adiposo subcutâneo. Estudos anteriores encontraram resultados semelhantes aos nossos quanto aos lipídios intra-hepáticos, nos dois tipos de treinamento (Johnson *et al.*, 2009; Leite *et al.*, 2009; Hallsworth *et al.*, 2011). Existem fortes evidências de que o treinamento de força estimula a oxidação lipídica no fígado devido a ativação da via da AMPK (Park *et al.*, 2002; Lavoie e Gauthier, 2006; Corriveau *et al.*, 2008) e regulação negativa de

enzimas lipogênicas pela expressão de genes hepáticos (Paquette *et al.*, 2008), já que a AMPK atua para fosforilar diversas proteínas que aumentam as taxas de glicose e ácidos graxos para corrigir o déficit de ATP que ocorre durante um estresse metabólico, como por exemplo, o exercício. Provavelmente isso explique a diminuição do conteúdo lipídico no fígado dos animais exercitados. A ativação da AMPK ainda pode ter influenciado a diminuição do conteúdo lipídico dos tecidos adiposos, estimulando a oxidação de gordura durante e após o exercício (Lavoie e Gauthier, 2006; Hallsworth *et al.*, 2011).

Inúmeros são os estudos que mostram a capacidade da dieta hiperlipídica alterar o perfil lipídico de ratos (Sene-Fiorese *et al.*, 2008; Sampey *et al.*, 2011), e que essas alterações estão associadas com a SM (Touati *et al.*, 2010), resistência a ação da insulina e esteatose hepática não alcoólica (Marques *et al.*, 2010). Nossos resultados confirmam a ocorrência dessas alterações, pois mostramos que os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores concentrações séricas de TGL e colesterol total. No entanto, nossa pesquisa mostrou que o treinamento, tanto em natação quanto em força, foi eficiente para melhorar o perfil lipídico, pois os animais treinados apresentaram maiores valores de HDL e menores valores de colesterol total, independentemente da dieta. Mas apenas os animais treinados em força apresentaram menores níveis de TGL. Esses resultados são consistentes com outros estudos que também observaram melhora no perfil lipídico dos animais após um período de treinamento (Guerra *et al.*, 2007; Lira *et al.*, 2010; Schrauwen-Hinderling *et al.*, 2010). Nossos dados contrastam com alguns estudos apenas sobre os resultados de TGL (Gauthier *et al.*, 2003; Marques *et al.*, 2010; Touati *et al.*, 2010), os quais observaram menores níveis após um período de treinamento aeróbio. Mesmo assim estes resultados indicam que o treinamento físico realizado simultaneamente com uma alimentação rica em gorduras, é capaz de reduzir seus efeitos deletérios sobre o perfil lipídico.

Nosso estudo mostrou que a dieta hiperlipídica além de levar ao aumento dos depósitos de gordura, aumento do conteúdo lipídico dos tecidos e dislipidemias, foi capaz de estimular o SE com aumento da expressão dos receptores CB1, já que o grupo SH exibiu 5 vezes a mais a expressão de CB1 que o grupo SP, no tecido adiposo visceral. Sabe-se que a dieta hiperlipídica e alimentos palatáveis levam ao desequilíbrio do SE, alterando o 2-AG, anandamida e expressão do receptor CB1 em diversos tecidos, inclusive o tecido adiposo visceral (Ravinet

Trillou *et al.*, 2004; Yan *et al.*, 2007; Engeli *et al.*, 2008). Starowicz *et al.*, (2008) alimentaram ratos com uma dieta hiperlipídica contendo 25% da calorias provenientes das gorduras, durante 14 semanas e observaram o aumento das concentrações de 2-AG e anandamida no pâncreas e tecido adiposo. Nossos resultados de expressão aumentada para CB1 são condizentes com os valores de área de adipócito aumentada no tecido adiposo visceral, que apesar dos resultados da expressão do PPAR $\gamma$  não terem sido significantes, indicam uma tendência para o aumento, mostrando que possivelmente o SE está estimulando os receptores PPAR $\gamma$ , levando ao acúmulo de lipídios em tal tecido, já que o grupo SH apresentou 2,6 vezes maior a expressão desse gene que o grupo SP.

Além da dieta hiperlipídica, o SE também estimula a atividade da LPL, aumentando a lipogênese e acúmulo de lipídios nos adipócitos (Cota *et al.*, 2003b), o que pode ter ocorrido em nosso estudo, já que houve aumento da expressão do receptor CB1. Petridou *et al.*, (2007), estudando o efeito do exercício crônico sobre a expressão do PPAR $\gamma$  em diferentes tecidos, também não observaram diferenças significativas no tecido adiposo de ratos, mas verificaram aumento na atividade transcricional do PPAR $\gamma$  nesses tecidos. É sabido que o aumento da atividade transcricional desse fator é importante por contribuir para o aumento da sensibilidade à insulina (Gurnell *et al.*, 2005). Assim pode ser que apesar de os nossos resultados não apresentarem aumento na expressão do PPAR $\gamma$ , sua atividade transcricional esteja aumentada, contribuindo para aumento da sensibilidade a insulina com consequente aumento na captação de glicose, levando ao aumento de lipídios nos adipócitos.

Várias são as evidências clínicas e experimentais que indicam que em comparação com outros tecidos adiposos, o visceral é o mais prejudicial, já que ele apresenta características únicas que aumentam o risco cardiovascular em pacientes obesos e com síndrome metabólica (Despres *et al.*, 1990). E a expressão aumentada de CB1 neste tecido parece ser importante para gerar a obesidade como evidenciado por várias descobertas recentes (Cota *et al.*, 2003b; Matias *et al.*, 2006; Pagano *et al.*, 2007). Nossos resultados mostraram que o treinamento aeróbio moderado e de força foram capazes de minimizar os efeitos da dieta hiperlipídica sobre a expressão do receptor CB1 no tecido adiposo visceral, já que os grupos treinados apresentaram menores valores na expressão desse gene, reduzindo assim os efeitos negativos do SE sobre o tecido adiposo visceral, corroborando com

o estudo de Yan *et al.*, (2007) que também encontraram diminuição na expressão de CB1 quando animais obesos realizaram exercício.

O sistema endocanabinóide participa na regulação da ingestão alimentar e gasto energético a nível central e periférico ligado a uma complexa rede de sinalização que envolve mediadores anorexígenos e orexígenos, como a leptina e grelina (Di Marzo *et al.*, 2001; Kola *et al.*, 2008). Embora estes mecanismos de controle não estejam totalmente claros, estudos indicam o CB1 como principal receptor atuando na regulação do apetite, sensibilidade à insulina e metabolismo lipídico (Williams *et al.*, 1999; Kirkham *et al.*, 2002). O estímulo do SE por uma agonista do CB1 no tecido adiposo visceral aumentou a capacidade de captação de glicose (Pagano *et al.*, 2007; Motaghedi *et al.*, (2008) e a expressão da ácido graxo sintetase, responsável pelo aumento da síntese “de novo” de ácido graxo, levando ao aumento do conteúdo lipídico no fígado (Osei-Hyiaman *et al.*, 2005). Nossos resultados corroboram com tais estudos já que houve aumento no conteúdo lipídico no fígado dos animais obesos com aumento na expressão de CB1, indicando que a dieta hiperlipídica estimulou o SE levando ao acúmulo de lipídios.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o desenho experimental e aos resultados obtidos, o presente estudo permite concluir que os protocolos de treinamento em natação e força utilizados, são importantes estratégias não-farmacológicas no controle dos efeitos deletérios da dieta hiperlipídica e obesidade, pois: controlou o ganho de massa corporal, melhorou o perfil lipídico ,aumentando o HDL e diminuindo o TGL; diminuiu o conteúdo lipídicos de vários tecidos adiposos e especialmente do fígado; diminuiu a área de adipócitos, e principalmente controlou o desequilíbrio do SE provocado pela dieta hiperlipídica, diminuindo os valores de expressão gênica para o receptor CB1. Esses achados levantam perspectivas clínicas interessantes para prevenir os efeitos da obesidade através do treinamento físico, principalmente em relação ao treinamento de força, já que existem poucos estudos sobre esse tipo de exercício no quadro de obesidade.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGA - AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION. Technical Review on Obesity. *Gastroenterology*. 123, p.882–932, 2002.
- AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*. 11, 327-32, 2000.
- AHMADI, N.; ESHAGHIAN, S. HUIZENGA, R. et al. Effects of Intense Exercise and Moderate Caloric Restriction on Cardiovascular Risk Factors and Inflammation. *The American Journal of Medicine*, 2011.
- ARAUJO G.G., ARAÚJO M.B., D'ANGELO R.A. et al. Máxima fase estável de lactato em ratos obesos de ambos os gêneros. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 15, 46-49, 2009.
- ARNONE, M.; MARUANI, J.; CHAPERON, F.; et al. Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid CB1 receptors. *Psychopharmacology*. 132, 104–106, 1997.
- BARAK, Y.; NELSON, M. C.; ONG, E. S. PPAR is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*. 4, 585-95, 1999.
- BASTARD, J. P.; MAACHI, M.; LAGATHU, C. et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 17, 4-12, 2006.
- BELLOCCHIO, L.; CERVINO, C.; PASQUALI, R.; PAGOTTO, U. The Endocannabinoid System and Energy Metabolism. *Journal of Neuroendocrinology*. 20, 850–857, 2008.
- BENNETZEN, M. F; NIELSEN, T. S.; PAULSEN, S. K. et al. Reducedcannabinoid receptor 1 protein in subcutaneous adipose tissue of obese. *Eur J Clin Invest.*; 2, 121–126, 2010.
- BENNETZEN, M. F. Investigations of the Endocannabinoid System in Adipose Tissue. *Dan Med Bull*. 4, 1 -29, 2011.
- BURNEIKO, R. C.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M. et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol*. 44, 1167-72, 2006.
- BRADLEY, R. L.; JEON, J. Y.; LIU, F. F.; MARATOS-FLIER, E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 295, 586-94, 2008.
- BRAVO, E.; PALLESCHI, S.; ASPICHUETA, P.; et al. High fat diet-induced non alcoholic fatty liver disease in rats is associated with hyperhomocysteinemia caused

by down regulation of the transsulphuration pathway. *Lipids in Health and Disease*, 10:60, 2011.

CIOLAC, E. G., GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev. Brás, Méd. Esporte*, 4, 319-24, 2004.

CORRIVEAU, P.; PAQUETTE, A.; BROCHU, M.; et al. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. *Maturitas*. 59, 259-67, 2008.

COSTA, R. R.; LIMA ALBERTON, C.; TAGLIARI, M.; MARTINS KRUEL, L. F. Effects of resistance training on the lipid profile in obese women. *J Sports Med Phys Fitness*. 51, 169-77, 2011.

COTA, D.; MARSICANO, G.; LUTZ, B.; et al. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes*. 27, 289-301, 2003(a).

COTA, D.; MARSICANO, G.; TSCHOP, M.; et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest*. 112, 423–31, 2003(b).

CHAPADOS, N. A.; SEELAENDER, M.; LEVY, E.; LAVOIE, J. M. Effects of exercise training on hepatic microsomal triglyceride transfer protein content in rats. *Horm Metab Res*. 4, 287-93, 2009.

CHURCH, T. Exercise in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 53, 412–418, 2011.

DÂMASO, A. R. Obesidade, 1ª Ed. Editora Medsi, p. 540, 2003.

DÂMASO, A. R. Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças., 1ª Ed. Editora Medsi, 2001.

DAVIDSON, L. E.; HUDSON, R.; KILPATRICK, K., et al. Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 169, 122–131, 2009.

DE GLISEZINSKI, I.; MORO, C., PILLARD, F. et al. Aerobic training improves exercise-induced lipolysis in scat and lipid utilization in overweight men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 285, 984-90, 2003.

DESPRES, J. P.; MOORJANI, S.; LUPIEN, P. J. A. et al. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis*. 10, 497–511, 1990.

DI MARZO, V.; MELCK, D.; BISOGNO, T.; DE PETROCELLIS, L. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci*. 21, 521–528, 1998.



- DI MARZO, V.; GOPARAJU, S. K.; WANG, L. et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*. 410, 822-825, 2001.
- DI MARZO, V., BIFULCO, M., PETROCELLIS, L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews*. 3, 771-84, 2004.
- DI MARZO, V. and MATIAS, I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neuroscience*. 5, 585-589, 2005.
- DI MARZO, V. The endocannabinoid system in obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 51, 1356–1367, 2008.
- DIETRICH, A. and MCDANIEL, W. F. Endocannabinoids and exercise. *Br. J. Sports Med*. 38, 536-541, 2004.
- DUARTE, F. O.; SENE-FIORESE, M.; MANZONI, M. S. J.; et al. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. *Nutrition*. 24, 177-186, 2008.
- ENGELI, S. and JORDAN, J. The Endocannabinoid System: Body Weight and Metabolic Regulation. *Abdominal adiposity and cardiometabolic risk*. 8, 24-35, 2006.
- ENGELI, S.; BOHNKE, J.; FELDPAUSCH, J. et al. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes*, 54, 2838-2843, 2005.
- ENGELI, S. Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *Journal of Neuroendocrinology*. 20, 110-115, 2008.
- ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*, 20, 218-224, 2004.
- FELDER, C. C.; JOYCE, K. E.; BRILEY, E. M.; et al. Comparison of the Pharmacology and Signal Transduction of the Human Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors. *Molecular Pharmacology*. 48, 443-450, 1995.
- FERRE P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes*; 53, 43–50, 2004.
- FERREIRA, F. C; DE MEDEIROS, A. I., NICIOLI, C. et al. Circuit resistance training in sedentary women: body composition and serum cytokine levels. *Appl Physiol Nutr Metab*. 35, 163-7, 2010.
- FINUCANE, M. M.; STEVENS, G. A.; COWAN, M. J. et al. 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.*, 377, 557-67, 2011.

FRANCISCHETTI, E. A. and ABREU, V. G. O Sistema endocanabinóide: nova perspectiva no controle de fatores de risco cardiometabólico. *Arq. Brás. Cardiol.* 87, 548-558, 2006.

GAUTHIER, M. S.; COUTURIER, K.; LATOUR, J. G.; LAVOIE, J. M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J Appl Physiol.* 94, 2127-34, 2003.

GINSBERG, H. N. and MACCALLUM, P. R. The obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus pandemic: II. Therapeutic management of atherogenic dyslipidemia. *J Clin Hypertens.* 11, 520-527, 2009.

GEISLER, S.; BRINKMANN, C.; SCHIFFER, T. et al. The influence of resistance training on patients with metabolic syndrome-significance of changes in muscle fiber size and muscle fiber distribution. *J Strength Cond Res.* 25, 2598-604, 2011.

GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A.; SIBUYA, C. Y. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 130, 21-7, 2001.

GOODPASTER, B.H. and KELLEY, D .E. Skeletal muscle trygliceride: marker or mediator of obesity-induced insulin resistance in type 2 diabetes mellitus? *Curr Diab Rep.* 2, 216-22, 2002.

GOODPASTER, B. H.; KATSIARAS, A.; KELLEY, D.E. Enhanced fat oxidation through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity. *Diabetes.* 52, 2191-7, 2003.

GOLLISCH, K. S.; BRANDAUER, J.; JESSEN, N. et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297, 495-504, 2009.

GOMES DA SILVA, S.; ARAUJO, B. H. S.; COSSA, A. C.; et al. Physical exercise in adolescence changes CB1 cannabinoid receptor expression in the rat brain. *Neurochemistry International* 57, 492–496, 2010.

GUARENTE, L. Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome. *Nature.* 444, 868-874, 2006.

GUERRA, R. L.; PRADO, W. L.; CHEIK, N. C.; et al. Effects of 2 or 5 consecutive exercise days on adipocyte area and lipid parameters in Wistar rats. *Lipids Health Dis.* 6, 16, 2007.

GURNELL M. Peroxisome proliferator–activated receptor  $\gamma$  and the regulation of adipocyte function: lessons from human genetic studies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 19, 501-23, 2005.

GUSTAT, J.; SRINIVASAN, S. R.; ELKASABANY, A.; BERENSON, G.S. Relation of self-rated measures of physical activity to multiple risk factors of insulin resistance

syndrome in young adults: the Bogalusa Heart study. *J Clin Epidemiol.* 55, 997-1006. 2002.

GRUNDY, S. M.; HANSEN, S. C.; SMITH, J. R.; et al. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation.* 109, 551-556, 2004.

HALLSWORTH, K.; FATTAKHOVA, G.; HOLLINGSWORTH, K. G. et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut*, 60, 1278-1283, 2011.

HANSEN, D.; DENDALE, P.; BERGER, J.; et al. The effects of exercise training on fat-mass loss in obese patients during energy intake restriction. *Sports Med.* 37, 31-46, 2007.

HÃO, S.; AVRAHAM, Y.; MECHOULAM, R.; BERRY, E. M. Low dose anandamide affects food intake, cognitive function, neurotransmitter and corticosterone levels in diet-restricted mice. *Eur J Pharmacol.* 392, 147-156, 2000.

HILL, M. N.; TITTERNESS, A. K.; MORRISH, A. C.; et al. Endogenous Cannabinoid Signaling Is Required for Voluntary Exercise-induced Enhancement of Progenitor Cell Proliferation in the Hippocampus. *Hippocampus.* 20, 513–523, 2010.

HIMAYA, A.; FANTINO, M.; ANTOINE, J. M.; et al. Satiety power of dietary fat: a new appraisal. *Am J Clin Nutr.* 65, 1410-8, 1997.

HIRSCH, J. and GALLIAN, E. Methods for determination of adipose cell size in man and animals. *J. Lipid. Res.* 9, 110-19, 1968.

HORNBERGER, T. A. JR. and FARRAR. R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can. J Appl. Physiol.* 29, 16-31, 2004.

HOWLETT, A. C.; BARTH, F.; BONNER, T. I. et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacol Rev.* 54, 161–202, 2002

HOWLETT, A. C.; BREIVOGEL, C. S.; CHILDERS, S. R. et al. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacol.* 47, 345-58, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008-2009, 2010. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2008\\_2009\\_encaa/pof\\_20082009\\_encaa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2008_2009_encaa/pof_20082009_encaa.pdf)

JAMES, P. T.; LEACH, R.; KALAMARA, E.; SHAYEGHI, M. The worldwide obesity epidemic. *Obesity Research.* 9, 228-233, 2001.

JBILLO, O. The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *FASEB J.* 19, 1567-1569, 2005.

JOHNSON, N. A.; SACHINWALLA, T.; WALTON, D. W. et al. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. *Hepatology.* 50, 5-12, 2009.

KADOWAKI, T.; HARA, K.; KUBOTA, N. et al. The role of PPAR $\gamma$  in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. *Journal of Diabetes and its Complications.* 16, 41-45, 2002.

KENNEY, B. K.; RAICHLIN, D. A.; MEEK, T. H. et al. Differential response to a selective cannabinoid receptor antagonist (SR141716: rimonabant) in female mice from lines selectively bred for high voluntary wheel-running behavior. *Behavioural Pharmacology.* 19, 812–820, 2008.

KIRKHAM, T. C.; WILLIAMS, C. M.; FEZZA, F.; DI MARZO, V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol.* 136, 550-557, 2002.

KOLA, B.; FARKAS, I.; CHRIST-CRAIN, M. et al. The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *Plos one.* 3, 1797, 2008.

KRETSCHMER, B. D.; SCHELLING, P.; BEIER, N. et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci.* 14, 1553-73, 2005.

LAKKA, T. A.; LAAKSONEN, D. E.; LAAKA, H. M. et al. Sedentary life style, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Med Sci Sports Exerc.* 35, 1279-86, 2003.

LAVOIE, J. M., and GAUTHIER, M. S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell. Mol. Life Sci.* 12, 1393, 2006.

LLADÓ, I.; RODRIGUEZ-CUENCA, S.; PUJOL, E. et al. Gender Effects on Adrenergic Receptor Expression and Lipolysis in White Adipose Tissue of Rats. *Obesity Research.* 10, 296-305, 2002.

LEITE, R. D.; PRESTES, J.; BERNARDES, C. F. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. *Appl Physiol Nutr Metab.* 34, 1079-86, 2009.

LEVIN, B. E. and DUNN-MEYNELL, A. A. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 286, 771–778, 2004.

- LIRA, F. S.; TAVARES, F. L.; YAMASHITA, A. S. et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. *Cell Biochem Funct.* 26, 701-8, 2008.
- LIRA, F. S.; ROSA, J. C.; YAMASHITA, A. S. et al. Endurance training induces depot-specific changes in IL-10/TNF- $\alpha$  ratio in rat adipose tissue. *Cytokine* 45, 80-85, 2009.
- LIRA, F. S.; YAMASHITA, A.; UCHIDA, M. C. et al. Low and moderate, rather than high intensity strength exercise induces benefit regarding plasma lipid profile. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 2, 31, 2010.
- LIVAK, K. J. and SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> Method. *Methods.* 25, 402-8, 2001.
- LOFGREN, P.; SJOLIN, E.; WAHLEN, K.; HOFFSTEDT, J. Human adipose tissue cannabinoid receptor 1 gene expression is not related to fat cell function or adiponectin level. *J Clin Endocrinol Metab.* 92, 1555-9, 2007.
- LUIKEN, J. J.; GLATZ, J. F.; BONEN, A. Fatty acid transport proteins facilitate fatty acid uptake in skeletal muscle. *Can J Appl Physiol.* 25, 333-52, 2000.
- MANGELSDORF DJ, THUMMEL C, BEATO M. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell.* 83, 835-839, 1995.
- MARCASSUS, B. P.; DESBAZEILLE, M.; BROS, A. et al. Melatonin Reduces Body Weight Gain in Sprague Dawley Rats with Diet-Induced Obesity. *Endocrinology.* 12, 5347-5352, 2003.
- MATIAS, I.; GONTHIER, M. P.; ORLANDO, P. et al. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and  $\beta$ -pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 3171-3180, 2006.
- MATIAS, I.; PATROSINO, S.; RACIOPPI, A. et al. Dysregulation of peripheral endocannabinoid levels in hyperglycemia and obesity: Effect of high fat diets. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 286, 66-78, 2008.
- MARQUES, C. M.; MOTTA, V. F.; TORRES, T. S. et al. Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Braz J Med Biol Res,* 43, 467-75, 2010.
- MOKDAD, A. H.; FORD, E. S.; BOWMAN, B. A. Prevalence of obesity, diabetes and obesity-related health risk factors. *Jama.* 289, 76-9, 2003.
- MORO, C.; PILLARD, F.; DE GLISEZINSKI, I. et al. Training enhances ANP lipid-mobilizing action in adipose tissue of overweight men. *Med Sci Sports Exerc.* 37, 1126-32, 2005.

MOTAGHEDI, R. and MCGRAW, T. E. The CB1 endocannabinoid system modulates adipocyte insulin sensitivity. *Obesity*. 8, 1727-34, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, D. C: *National Academy Press*, 1996.

OSEI-HYIAMAN, D, DEPETRILLO M, PACHER P, et al. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 115, 1298-1305, 2005.

PAGANO, C.; PILO, C.; CALCAGNO, A. et al. The Endogenous Cannabinoid System Stimulates Glucose Uptake in Human Fat Cells via Phosphatidylinositol 3-Kinase and Calcium-Dependent Mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab*. 92, 4810–4819, 2007.

PAGOTTO, U.; MARSICANO, G.; COTA, D. et al. The Emerging Role of the Endocannabinoid System in Endocrine Regulation and Energy Balance. *Endocr. Rev.* 27, 73–100, 2006.

PANVELOSKI-COSTA, A. C.; PINTO JÚNIOR, D. A.; BRANDÃO, B. B. et al. Treinamento resistido reduz inflamação em músculo esquelético e melhora a sensibilidade à insulina periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 55, 155-163, 2011.

PARK, H.; KAUSHIK, V.K.; CONSTANT, S. et al. Coordinate regulation of malonyl-CoA decarboxylase, sn-glycerol-3-phosphate acyl-transferase, and acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated pro-tein kinase in rat tissues in response to exercise. *J. Biol. Chem*. 36, 32571-577, 2002.

PAQUETTE, A.; WANG, D.; JANKOWSKI, M. et al. Effects of ovariectomy on PPAR alpha, SREBP-1c, and SCD-1 gene expression in the rat liver. *Menopause*. 6, 1169–1175, 2008.

PEDERSEN, B. K. and SALTIN, B. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 16, 5-65, 2006.

PEDERSEN, B. K. The disease of physical inactivity--and the role of myokines in muscle--fat cross talk. *J Physiol*. 23, 5559-68, 2009.

PETRIDOU, A.; TSALOUHIDOU, S.; TSALIS, G. et al. Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rat adipose tissue. *Metabolism*. 56, 1029-36, 2007.

PIGHON, A.; PAQUETTE, A.; BARSALANI, R. et al. Substituting food restriction by resistance training prevents liver and body fat regain in ovariectomized rats. *Climacteric*. 12, 153-64, 2009.

RAVINET TRILLOU, C.; ARNONE, M.; DELGORGE, C. et al. Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol*. 284, 345-353, 2003.

- RAVINET TRILLOU, C.; DELGORGE, C.; MENET, C. et al. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *International Journal of Obesity*, 28, 640–648, 2004.
- RENNIE, K. L.; MCCARTHY, N.; YAZDGERDI, S. et al. Association of metabolic syndrome with both vigorous and moderate physical activity. *Int J Epidemiol.* 32, 600-6, 2003.
- RICCARDI, G.; GIACCO, R.; RIVELLESE, A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*, 23, 447-456, 2004.
- ROBERTS, C. K.; BERGER, J. J.; BARNARD, J. Long-term effects of diet on leptin, energy intake, and activity in a model of diet-induced obesity. *J Appl Physiol.* 93, 887–893, 2002.
- ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L.; HIRSCH, J. *Obesity. N Engl J Med.* 337, 396–408, 1997.
- ROSEN, E. D. and MACDOUGALD, O. A. Adipocyte differentiation from the inside out. *Molecular. Cell biology*, 7, 885-896, 2006.
- ROSS, R. and JANSSEN, I. Physical activity, total and regional obesity: dose-response considerations. *Med Sci Sports Exerc.* 33, 21-527, 2001.
- SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M. et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity*, 18, 1-9, 2011.
- SENE-FIORESE, M.; DUARTE, F.O.; SCARMAGNANI, F. R. R.; et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. *Obesity Research.* 16, 2217-2222, 2008.
- SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B.; HESSELINK, M. K.; MEEEX, R. et al. Improved ejection fraction after exercise training in obesity is accompanied by reduced cardiac lipid content. *J Clin Endocrinol Metab.* 4, 1932-8, 2010.
- SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, D. J. R. et al. Central Nervous System Control of Food Intake. *Nature.* 404, 661-71, 2000.
- 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.* Published online: february, 2011.
- SIMOES, H. G.; CAMPBELL, C. S.; KUSHNICK, M. R.; et al. Blood glucose threshold and the metabolic responses to incremental exercise tests with and without prior lactic acidosis induction. *Eur J Appl Physiol.* 89, 603-11, 2003.
- SINGLA, P.; BARDOLOI, A.; PARKASH, A. A. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes.* 3, 76-88, 2010.

SELL, H.; DESHAIES, Y.; RICHARD, D. The brown adipocyte: update on its metabolic role. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 36, 2098–2104, 2004.

SYMONDS, M. E.; MOSTYN, A.; PEARCE, S. et al. Endocrine and nutritional regulation of fetal adipose tissue development. *J. Endocrinol.* 179, 293-299, 2003.

SPARLING, B.; GIUFFRIDA, A.; PIOMELLI, D. et al. Exercise activates the endocannabinoid system. *Neuroreport*. 14, 2209-2211, 2003.

STANSBIE, D.; BROWNSEY, R. W.; CRETZAZ, M., DENTON, R. M. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. *Biochem J*. 160, 413-6, 1976.

STANTON, M. C.; CHEN, S. C.; JACKSON, J. V. et al. Inflammatory Signals shift from adipose to liver during high fat feeding and influence the development of steatohepatitis in mice. *Journal of Inflammation*. 8, 8, 2011.

STAROWICZ, K. M.; CRISTINO, L.; MATIAS, I. et al. Endocannabinoid dysregulation in the pancreas and adipose tissue of mice fed with a high-fat diet. *Obesity*. 16, 553-65, 2008.

STIENSTRA, R.; DUVAL, C.; MULLER, M. et al. PPARs, Obesity, and Inflammation. *PPAR Research*. 2007, 959-74, 2007.

THOMPSON, P. D.; D. BUCHNER, I. L.; PINA, G. J. et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation*. 107, 3109-3116, 2003.

TONTONOZ, P.; HU, E.; SPIEGELMAN, B. M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid activated transcription factor. *Cell*. 79, 1147-56, 1994.

TOUATI, S.; MEZIRI, F.; DEVAUX, S.; et al. Exercise Reverses Metabolic Syndrome in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *Med Sci Sports Exerc*. 43, 398-407, 2011.

VAN GAAL, L. F.; RISSANEN, A. M.; SCHEEN, A. J. et al. RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet*. 365, 1389-97, 2005.

VARADY, K. A.; BHUTANI, S.; KLEMPPEL, M. C. and KROEGER, C. M. Comparison of effects of diet versus exercise weight loss regimens on LDL and HDL particle size in obese adults. *Lipids in Health and Disease*. 10, 119, 2011.



- WAGENER, A.; GOESSLING, H. F.; SCHMITT, A. O. et al. Genetic and diet effects on Ppar- and Ppar-signaling pathways in the Berlin Fat Mouse Inbred line with genetic predisposition for obesity. *Lipids in Health and Disease*. 9, 2010.
- WASHINGTON, M. C.; COGGESHALL, J.; SAYEGH, A. I. Cholecystokinin-33 inhibits meal size and prolongs the subsequent intermeal interval. *Peptides*. 32, 971-7, 2011.
- WAJCHENBERG, B. L.; GIANNELLA-NETO, D.; SILVA, M. E. R. et al. Specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 34, 616-21, 2002.
- WELLEN, K. E. & HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest*. 115, 1111–9, 2005.
- WESTERTERP, K. R. Diet-induced thermogenesis. *Nutr Metab*. 1, 1–5, 2004.
- WILLIAMS, C. M. and KIRKHAM, T. C. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*. 143, 315-7, 1999.
- WOODS, S. C.; SEELEY, R. J.; RUSHING, P. A. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *American Society for Nutritional Science*. 133, 1081-1087, 2003.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION - Obesity – preventing and managing the global epidemic. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998.
- YAN, Z. C.; LIU, D. Y.; ZHANG, L. L. et al. Exercise reduces adipose tissue via cannabinoid receptor type 1 which is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor- $\delta$ . *Rev. Biochemical and Biophysical Research Communications*. 354, 427-433, 2007.
- XU, X.; YING, Z.; CAI, M. et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 300, 1115–1125, 2011.

## 9. ANEXOS



LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL  
RESULTADOS DE ANÁLISES

SOLICITANTE : Marisa Cristina Rosante PROJETO : Particular  
Nº REQUISIÇÃO : 10/023

Nº DE ARQUIVO : marisa\_023\_10.doc

DATA DA ENTREGA DO RESULTADO: 26/04/2010

DATA DA COLETA: 26/03/2010

| Nº Lab  | Particular S: 10/023 | M.S total | P.B   | E.E   | F.B   | M.M  | Ca   | P    |
|---------|----------------------|-----------|-------|-------|-------|------|------|------|
| 10/0531 | Identificação        |           |       | %     |       |      | g/Kg |      |
|         | Ração para Ratos     | 91,49     | 20,54 | 22,33 | 12,34 | 4,63 | 5,09 | 4,70 |

| Nº Lab  | Particular S: 10/023 | Mg   | K    | S    | Cu   | Fe     | Mn    | Zn    |
|---------|----------------------|------|------|------|------|--------|-------|-------|
| 10/0531 | Identificação        |      |      |      |      | mg/kg  |       |       |
|         | Ração para Ratos     | 1,84 | 5,97 | 1,98 | 8,43 | 324,17 | 58,19 | 46,40 |

M.S total=Matéria Seca total, P.B=Proteína Bruta, E.E=Extrato Etéreo, F.B=Fibra Bruta, M.M=Matéria Mineral  
Ca=Cálcio, Mg=Magnésio, P=Fósforo, K=Potássio, S=Enxofre, B=Boro, Cu=Cobre, Fe=Ferro, Mn=Manganês, Zn=Zinco

GILBERTO BATISTA DE SOUZA  
CRQ - IV - N. 0060030



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Pecuária Sudeste 13560-970 - São Carlos, SP  
Tel: (0XX16) 3411 5671  
Fax: (0XX16) 3411 5754  
sac@cppe.embrapa.br  
www.cppe.embrapa.br