

**ARIETE INÊS MINETTO**

**EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO  
PROGRESSIVO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DA  
INSULINA EM CAMUNDONGOS OBESOS**

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde para obtenção  
do título de Doutora em Ciências  
da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Claudio  
Teodoro de Souza.

**CRICIÚMA  
2016**

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M664e Minetto, Ariete Inês.

Efeitos do treinamento resistido progressivo sobre a via de sinalização da insulina em camundongos obesos / Ariete Inês Minetto ; orientador: Claudio Teodoro de Souza, – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2016.

91 p. : il. ; 21 cm.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, SC, 2016.

1. Obesidade. 2. Adiposidade corporal. 3. Treinamento resistido. 4. Treinamento de resistência. 5. Hipertrofia muscular. 6. Resistência à insulina. I. Título.

CDD. 22<sup>a</sup> ed. 613.713



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO apresentada pela candidata **Ariete Inês Minetto** sob o título **“EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO PROGRESSIVO SOBRE A VIA DE SINALIZAÇÃO DA INSULINA EM CAMUNDONGOS OBESOS”**, para obtenção do grau de **DOUTOR EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, os membros são de parecer pela **“APROVAÇÃO”** da Tese.

Criciúma, SC, 15 de dezembro de 2016.

Prof. Dr. ALEXANDRE PASTORIS MÜLLER

Membro Relator – UNESC

Prof. Dr. PAULO CÉSAR LOCK SILVEIRA

Membro Interno – UNESC

Prof. Dr. WILLIANS CASSIANO LONGEN

Membro Externo – UNESC

Prof.<sup>a</sup> Dra. VIVIANE DE MENEZES CACERES

Membro Externo – UFSC

Prof. Dr. Claudio Teodoro de Souza  
Orientador

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Inês da Rosa  
Coordenadora do PPGCS



## **FOLHA INFORMATIVA**

A tese foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.



*Ao meu esposo, **Donato**, aos  
meus filhos, **Pedro e Maria**,  
pelo apoio e amor  
incondicional. A minha  
felicidade e o meu sucesso é a  
felicidade e o sucesso da minha  
família. “Amo mais...”, como  
dizem meus filhos.*





## AGRADECIMENTOS

*“A utopia está no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar.” Eduardo Galeano.*

Sou grata:

À meu orientador, **Prof. Dr. Claudio Teodoro de Souza**, pela sua sabedoria, compreensão, integridade, disponibilidade e pelo apoio à mim dispendido durante todo o doutorado, Um Grande Pesquisador!!!!

Pela competente equipe do LAFIBE (2012-2016: Cláudio, Thaís, Schérolin, Bruno, Daniela, Janesca, Gabriela, Matheus, Vitor, Hemelin, Lara, João Annibal): vocês fazem parte desta conquista. “Vocês fizeram a diferença”;

Aos colegas de: doutorado, do curso de Fisioterapia da UNESC em especial ao meu parceiro de coordenação Prof Dr. Eduardo Ghisi Victor, colegas de dividir angústias, de dar apoio;

Aos meus alunos que entenderam a minha ausência nas muitas vezes para que eu pudesse estar no doutorado.

Às secretárias e companheiras do Curso de Fisioterapia Simone e Jéssica e das Clínicas Integradas, Mariane e Camila que me pouparam das tarefas diárias para que eu pudesse finalizar o meu doutorado.

A UNASAU, representada pela diretora Prof Ms Indianara Reynauld Toreti Becker e aos Coordenadores de ensino Prof Dr Willians Cassiano Longem e extensão Prof Ms Valdemira Santina Dagostin.

Aos meus pais, Ari e Lucilda Minetto, que incansavelmente sempre me desejavam sorte, me ajudaram em tudo o que eu precisava, e vibraram comigo quando iniciei a nova fase de estudos, deixando tudo mais fácil;

Aos meus irmãos e cunhadas Carlos e Andréia e Roberto e Gabriela que sempre torceram e me incentivaram muito.

Aos meus filhos Pedro e Maria Clara, que tinham orgulho que a mamãe estava fazendo doutorado. Lembro-me que um dia meu filho falou que quando crescesse iria comprar um trator e eu perguntei “para que meu filho?” ele respondeu: “para derrubar a UNESC”, pois ela estava roubando a mamãe deles. Amor infinito!!!



Ao Donato, meu marido e minha alma gêmea, pelas mensagens de apoio e de incentivo; pela sua compreensão do meu cansaço e dos pensamentos distantes, agradeço sua paciência e seu carinho incondicional, minha gratidão;

À Deus, pela sua bondade infinita de ter colocado pessoas na minha vida que me ajudaram nesta caminhada!!!



“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer).



## RESUMO

A incidência e prevalência de obesidade tem aumentado marcadamente nas últimas décadas. O que é mais preocupante é que a obesidade está associada a várias doenças crônicas degenerativas não transmissíveis, destacando o diabetes mellitus do tipo 2 (DM2). O grande elo entre a obesidade e o DM2 é a instalação do quadro de resistência à insulina. De longa data, sabe-se que níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentados pode levar a instalação da resistência à insulina e conseqüentemente ao DM2. Estudos têm mostrados os benefícios do exercício físico de resistência cardiopulmonar sobre a massa de gordura bem como na redução dos níveis de citocinas e melhora da sinalização da insulina. No entanto, pesquisas acerca dos efeitos do exercício resistido na melhora da sinalização da insulina em indivíduos obesos são escassas ou inconclusivas. Assim, o presente estudo avaliou o efeito dos treinamentos de resistência muscular, de força e de hipertrofia sobre a sinalização da insulina em tecido adiposo, fígado e músculo esquelético de camundongos *Swiss* obesos. Foram utilizados 80 camundongos *Swiss* machos divididos inicialmente em dois grupos: animais alimentados com dieta padrão e dieta hiperlipídica. Após instalação da obesidade, os animais foram subdivididos em alimentados com dieta padrão não treinados (I) magros com treinamento de resistência (II), magros com treinamento de hipertrofia (III), magros com treinamento de força (IV), obesos (alimentados com dieta hiperlipídica) sedentários (V), obesos submetidos a treinamento de resistência (VI), obesos submetidos a treinamento de hipertrofia (VII) e obesos submetidos a treinamento de força (VIII). Cada grupo foi composto por 10 animais. O protocolo de treinamento físico ocorreu durante 10 semanas de exercícios em escalada (subida em escada), treinados em dias alternados. A extração dos tecidos se deu após quarenta e oito horas à última sessão de exercício para análise do índice de adiposidade, dos níveis proteicos e de fosforilação da AKT por Western blotting. O sangue foi coletado para análises séricas de citocinas e de lactato. Os dados foram verificados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido pelo teste *post hoc* Tukey, considerando significativo um  $p < 0,05$ . A carga de treinamento ocorreu de maneira constante e igualitária, verificada através dos níveis de





lactato sanguíneo. A alimentação com dieta hiperlipídica aumentou marcantemente os níveis de glicose sanguínea basal, sugerindo instalação de resistência a ação da insulina. Verificamos que os três tipos de treinamentos avaliados foram eficazes em reduzir o peso corporal, mas que somente os treinamentos de hipertrofia e força foram eficazes em reduzir o índice de adiposidade em camundongos obesos quando comparados ao grupo obeso não treinado. Como já descrito a DH (Dieta Hiperlipídica) resultou em um aumento significativo da glicose sanguínea, mas nenhum tipo de treinamento foi eficaz em reduzir significativamente os valores glicêmicos. Em relação aos níveis de citocinas no tecido hepático e muscular, os níveis proteicos de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  não foram alterados quando comparamos os grupos magros e obeso e nem com o treinamento físico.. Em relação aos níveis de IL-1 $\beta$  no tecido adiposo, o grupo DHNT (Dieta Hiperlipídica Não Treinados) apresentou aumento significativo quando comparado ao DPNT (Dieta Padrão Não Treinados). Aumento similar pode ser observado quanto aos níveis proteicos de TNF $\alpha$ , ou seja, o grupo obesos não treinado apresentou maiores valores de eTNF $\alpha$  comparado ao grupo magro não treinado. Os níveis de TNF $\alpha$  foram reduzidos após treinamento de hipertrofia e força, mas não resistência quando comparado ao obeso não treinado. No entanto, nenhum treinamento alterou os níveis proteicos de eIL-1 $\beta$  quando comparado ao grupo obeso. Foi analisado, também, os níveis proteicos da Akt fosforilada. Nos três tecidos avaliados não houve diferença nos níveis de fosforilação da Akt quando comparado os grupos magros e obesos. No entanto, todos os diferentes treinamentos foram eficazes em aumentar os níveis de fosforilação da Akt, tanto em animais magros quanto obesos quando comparados com seus respectivos controles tanto no tecido hepático quanto adiposo. Nenhuma alteração entre os 8 grupos avaliados foi observada na fosforilação da Akt no tecido muscular. Dessa forma, o presente estudo apontou os benefícios do exercício físico de hipertrofia e força na redução da adiposidade e na melhora do seu efeito anti-inflamatório

**Palavras-chaves:** Exercício físico; obesidade; resistência à insulina; inflamação.



## ABSTRACT

The incidence and prevalence of obesity has increased markedly in recent decades. The fact more worrying is that obesity is associated with several non-transmissible chronic degenerative diseases, highlighting type 2 diabetes mellitus (DM2). The major link between obesity and DM2 is the setting up of insulin resistance. It has long been known that increased levels of proinflammatory cytokines may lead to the installation of insulin resistance and consequently to DM2. Studies have shown the benefits of physical exercise of cardiopulmonary resistance on fat mass as well as in reducing cytokine levels and improving insulin signaling. However, research on the effects of resistance exercise on the improvement of insulin signaling in obese individuals is scarce or inconclusive. Thus, the present study evaluated the effect of training of muscle resistance, strength and hypertrophy on insulin signaling in adipose tissue, liver and skeletal muscle of obese Swiss mice. Eighty male Swiss mice were initially divided into two groups: animals fed a standard diet and a hyperlipid diet. After the installation of obesity, the animals were subdivided into non-trained standard diet (I) lean with resistance training (II), lean with hypertrophy training (III), lean with strength training (IV), obese Hyperlipidic diet, sedentary (V), obese subjects submitted to resistance training (VI), obese subjects submitted to hypertrophy training (VII) and obese subjects submitted to strength training (VIII). Each group consisted of 10 animals. The physical training protocol occurred during 10 weeks of climbing exercises (stair climbing), trained on alternate days. Tissue extraction occurred after forty-eight hours at the last exercise session for analysis of the adiposity index, protein levels and phosphorylation of AKT by Western blotting. Blood was collected for serum cytokine and lactate analyzes. The data were verified by the two-way ANOVA test, followed by the Tukey post hoc test, considering a  $p < 0.05$ . The training load occurred in a constant and egalitarian way, verified through blood lactate levels. Hyperlipid diet led to a marked increase in basal blood glucose levels, suggesting the installation of resistance to the action of insulin. We verified that the three types of training evaluated were effective in reducing body weight, but that only the training of



hypertrophy and strength were effective in reducing the adiposity index in obese mice when compared to the untrained obese group. As previously described, DH (Hyperlipid Diet) resulted in a significant increase in blood glucose, but no type of training was effective in significantly reducing glycemic values. Regarding the levels of cytokines in the hepatic and muscular tissues, the TNF $\alpha$  and IL-1 prote levels were not altered when we compared the lean and obese groups and neither with the physical training. Regarding IL-1 $\beta$  levels in tissue Adipose, the DHNT (Untrained Hyperlipid Diet) group presented a significant increase when compared to the PNTD (Untrained Standard Diet). Similar increase can be observed in TNF $\alpha$  protein levels, that is, the untrained obese group had higher d eTNF valores values compared to the untrained lean group. TNF $\alpha$   $\pm$  levels were reduced after training of hypertrophy and strength, but not resistance when compared to the untrained obese. However, no training altered the eIL-1 prote protein levels when compared to the obese group. The protein levels of phosphorylated Akt were also analyzed. In the three tissues evaluated there were no difference in Akt phosphorylation levels when compared to lean and obese groups. However, all the different workouts were effective at increasing Akt phosphorylation levels in both lean and obese animals compared to their respective controls in both hepatic and adipose tissue. No changes among the 8 groups evaluated were observed in Akt phosphorylation in muscle tissue. Thus, the present study pointed to the benefits of physical exercise of hypertrophy and strength in reducing adiposity and improving its anti-inflammatory effect.

**Key-words:** Physical exercise; obesity; Insulin resistance; inflammation.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Sinalização da insulina na captação de glicose.....	34
Figura 2 - Figura representativa mostrando camundongos <i>swiss</i> alimentados por 17 semanas com dieta padrão e dieta hiperlipídica....	48
Figura 3 - Figura representativa da escada utilizada para os treinamentos .....	49
Figura 4 - Protocolo de treinamento de resistência muscular.....	50
Figura 5 - Protocolo de treinamento de força.....	50
Figura 6 - Protocolo de treinamento de hipertrofia.....	51
Figura 7 - Concentrações de lactato sanguíneo.....	54
Figura 8 - Peso corporal e índice de adiposidade.....	56
Figura 9 - Glicose sanguínea basal.....	58
Figura 10 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$ e IL-1 $\beta$ em fígado.....	60
Figura 11 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .....	61
Figura 12 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$ e IL-1 $\beta$ em músculo gastrocnêmio.....	62
Figura 13 - Fosforilação da Akt em fígado, adiposo e músculo esquelético.....	64





## LISTA DE ABREVIATURAS

Akt - proteína quinase B  
AMP – adenosina monofosfato  
AMPK – proteína quinase ativada por AMP  
ATGL – lipase da gotícula de gordura no tecido adiposo  
ATP – adenosina trifosfato  
DAG – diacilglicerol  
DH – dieta hiperlipídica  
DHNT – dieta hiperlipídica não treinado  
DHTF – dieta hiperlipídica treinamento de força  
DHTH – dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia  
DHTR – dieta hiperlipídica treinamento de resistência  
DM2 – Diabetes Melitus tipo 2  
DP – dieta padrão  
DPNT – dieta padrão não treinado  
DPTF – dieta padrão treinamento de força  
DPTH – dieta padrão treinamento de hipertrofia  
DPTR – dieta padrão treinamento de resistência  
FABP – proteínas de ligação de ácidos graxos  
Glut-4 – transportador dependente de insulina  
G1p – glicerol-1-fosfato  
HSL – lipase sensível a hormônio  
IMC – índice de massa corporal  
IR – Receptor de insulina  
IRS – substrato de receptor de insulina  
NEFA – ácidos graxos livres não esterificados  
NT – não treinado  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
PGC-1 – coativador 1 do receptor ativado por proliferador de peroxissoma  
PKA – proteína quinase A  
SDH – succinato desidrogenase Sem - semanas  
TAG – triacilglicerol  
TF – treinamento de força  
TH – treinamento de hipertrofia  
TR – treinamento de resistência muscular  
TRP – treinamento resistido progressivo



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>31</b>
1.1 A EPIDEMIA DA OBESIDADE.....	31
1.2 SINALIZAÇÃO DA INSULINA .....	32
<b>1.2.1 Efeitos no músculo esquelético</b> .....	<b>35</b>
<b>1.2.2 Efeitos no tecido adiposo</b> .....	<b>35</b>
<b>1.2.3 Efeitos no fígado</b> .....	<b>36</b>
1.3 RESISTÊNCIA À INSULINA: ELO ENTRE OBESIDADE E DM2 .....	38
1.4 EFEITOS MOLECULARES DO EXERCÍCIO FÍSICO NA SINALIZAÇÃO DA INSULINA .....	40
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>45</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	45
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	45
<b>3 MÉTODOS</b> .....	<b>46</b>
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	46
3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS E DIETA .....	46
3.3 PROTOCOLO DE TREINAMENTO.....	48
<b>3.3.1 Protocolo de treinamento de resistência muscular (TR)</b> .....	<b>50</b>
<b>3.3.2 Protocolo de treinamento de força (TF)</b> .....	<b>50</b>
<b>3.3.3 Protocolo de treinamento de hipertrofia (TH)</b> .....	<b>51</b>
3.4 TESTE DE CITOCINAS SÉRICAS (TNF-A E IL-1B) .....	51
3.5 TESTE DE LACTATO .....	51
3.6 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE .....	52
3.7 ANÁLISES DOS NÍVEIS PROTEICOS E DE FOSFORILAÇÃO DA AKT POR WESTERN BLOTTING .....	52
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>54</b>
4.1 LACTATO SANGUÍNEO.....	54
4.2 PESO CORPORAL.....	55
4.3 GLICEMIA BASAL .....	57
4.3 NÍVEIS TECIDUAIS DE CITOCINAS PRO-INFLAMATÓRIAS: TNF $\alpha$ E IL1- $\beta$ .....	59
4.4 FOSFORILAÇÃO DA AKT <sup>SER473</sup> EM FÍGADO, ADIPOSO E MÚSCULO GASTROCNÊMIO.....	63
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>89</b>



<b>ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....</b>	<b>90</b>
---	-----------



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A EPIDEMIA DA OBESIDADE

A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial, resultante da interação entre diversos fatores, tais como: genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais (Guedes et al., 2006; Sociedade Brasileira de Pediatria, 2008; Abeso, 2009). Em estudo a obesidade atinge proporções epidêmicas em grande parte do mundo (Poirier et al., 2006). Conforme análise da International Obesity Task Force (Guedes 2010), estima-se que aproximadamente 1 bilhão de adultos possuam sobrepeso ( $IMC \geq 25 - 29,9 \text{Kg/m}^2$ ) e 475 milhões sejam obesos ( $IMC > 30 \text{Kg/m}^2$ ). A epidemia da obesidade atinge intensamente os países desenvolvidos, porém pesquisas apontam que a prevalência tem aumentado inclusive no Brasil, devido a transição nutricional que vem ocorrendo nas últimas décadas (Friedman, 2000; Boden, 2011). No Brasil, conforme revelam dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), 54,5% dos homens apresentam sobrepeso e 16,5% são obesos, enquanto das mulheres 48,1% possuem sobrepeso e 18,2% obesidade (MS, 2013).

Do ponto de vista clínico, define-se obesidade como a condição de elevado peso corporal, principalmente de gordura, de magnitude suficiente para produzir consequências adversas à saúde (Kopelman, 2000). Caracterizada pelo desequilíbrio no balanço energético, onde a combinação de alta ingestão alimentar juntamente com o estilo de vida sedentário levam ao aumento significativo de peso corporal (Stein e Colditz, 2004), seguido do aumento do tecido adiposo acompanhado de menor longevidade e maior morbidade, com grandes propensões ao desenvolvimento de doenças como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares (Spiegelman e Flier, 2001), dislipidemias e aterosclerose (McGill Jr et al., 2002). Como critério para o diagnóstico, a literatura utiliza amplamente o índice de massa corporal (IMC), obtido por meio de fórmula que combina peso e altura. Segundo a OMS, o diagnóstico é feito da seguinte forma: pré-obesidade,  $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ ; obesidade,  $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ . A obesidade é classificada de acordo com a gravidade: obesidade grau I,  $IMC \geq 30$  e  $< 34,99 \text{ Kg/m}^2$ ; obesidade grau II,  $IMC \geq 35$  e  $< 39,99 \text{ Kg/m}^2$  e obesidade grau III,  $IMC \geq 40 \text{ Kg/m}^2$  (WHO, 2000). A medida da circunferência da cintura  $\geq 94$  cm nos homens e  $\geq 80$  cm nas mulheres representa risco aumentado de complicações metabólicas. Já valores  $\geq 120$  cm no sexo masculino e  $\geq$

88 cm no sexo feminino indicam alto risco (WHO, 2000). Apesar das bases genéticas transmissíveis da obesidade serem inquestionáveis, isoladamente são insuficientes para explicar o alarmante aumento da incidência da patologia em todo o mundo em curto espaço de tempo; tal aumento é melhor explicado pelas mudanças comportamentais ocorridas nas últimas décadas. As tendências genéticas à obesidade vêm apresentando maior expressão diante das mudanças no padrão alimentar associado à inatividade física, em consequência do processo de modernização (Stein e Colditz, 2004; Morton et al., 2006). O balanço energético positivo associado ao alto consumo calórico e ao sedentarismo é responsável pela maior parte dos casos de obesidade em seres humanos. Dentre os fatores alimentares, há evidências de um consumo energético excessivo, principalmente de fontes lipídicas saturadas. O consumo alimentar baseado em uma dieta hiperlipídica, à base de gordura saturada, é fator de risco no desenvolvimento da obesidade, levando a um aumento nos níveis plasmáticos de ácidos graxos livres e acúmulo excessivo de gordura corporal, principalmente na região abdominal (Bastard et al., 2006; Ron et al., 2007; Hotamisligil et al., 2008).

## 1.2 SINALIZAÇÃO DA INSULINA

Para compreensão dos mecanismos moleculares relacionados à obesidade, faz-se necessário entender a via molecular de sinalização da insulina e seus efeitos fisiológicos. A insulina é um hormônio anabólico produzido e secretado pelas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas e age em diferentes tecidos ativando a captação de glicose (Youngren, 2007). A manutenção na homeostasia da glicose, crescimento e diferenciação celular são mediadas pela ação da insulina (Mondon et al., 1980). A ação da insulina começa com sua ligação a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica transmembranária, composta por duas subunidades alfa extracelulares, dispostas simetricamente e que se ligam, cada uma delas, por pontes de dissulfeto a uma subunidade beta transmembrânica, com domínio intracelular, que possui atividade tirosina quinase intrínseca, denominado receptor de insulina (IR) (Saltiel e Kahn, 2001). A insulina liga-se a subunidade alfa do IR, o que resulta na autofosforilação da subunidade beta do IR. A ativação do IR resulta em fosforilação em tirosina de diversos substratos, incluindo substrato do receptor de insulina 1 (IRS1) e 2 (IRS2). IRS-1 e 2 fosforilados em tirosina funcionam como proteínas de ancoramento para moléculas contendo



domínio *src homology* (SH). Uma destas proteínas é fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K). A interação entre a subunidade regulatória p85 da PI3K e o IRS fosforilado promove a ativação da subunidade catalítica p110 da PI3K, promovendo sua ativação. A PI3K é importante na regulação da mitogênese, diferenciação celular e efeitos metabólicos estimulados pela insulina. A enzima catalisa a fosforilação dos fosfoinositídeos de membrana na posição 3 do anel de inositol produzindo fosfatidilinositol-3 fosfato, fosfatidilinositol-3,4 difosfato e fosfatidilinositol-3,4,5 trifosfato. A ativação da PI3K aumenta a fosforilação em serina da proteína quinase B (Akt). A proteína Akt é uma serina treonina quinase que possui três isoformas (Akt1, Akt2 e Akt3). A proteína Akt tem a função de fosforilar e ativar vários alvos que culminam com a ação fisiológica da insulina, como a captação de glicose e a síntese de glicogênio e proteínas. A ativação da Akt depende da fosforilação de pelo menos dois resíduos chaves da molécula: treonina 308 (Thr<sup>308</sup>) e serina 473 (Ser<sup>473</sup>) (Alessi et al., 1996). A fosforilação do resíduo Ser<sup>473</sup> não é apenas importante para a fosforilação da Thr<sup>308</sup>, mas necessário para a ativação da Akt (Sarbasov et al., 2005). A ativação da Akt resulta na translocação do GLUT-4 para a membrana celular, permitindo a entrada de glicose para a célula através de difusão facilitada (Pauli et al., 2009).

O GLUT-4 é o transportador dependente de insulina mais abundante nas membranas celulares do músculo esquelético, cardíaco e tecido adiposo. É o principal responsável pela captação de glicose circulante nos humanos. Sem o estímulo hormonal, a concentração de GLUT-4 na membrana é muito baixa, permanecendo armazenados em vesículas citoplasmáticas. Quando são estimulados pela insulina, esses transportadores são translocados para a membrana e o transporte de glicose através destes é facilitada. Em algumas células, como os neurônios e as hemácias, a glicose é capaz de se difundir para o interior da célula sem precisar da insulina (Olson e Pessin, 1996; Foster e Klip, 2000). Na figura 1 está representado o esquema resumido das etapas de sinalização da insulina envolvida na captação de glicose.

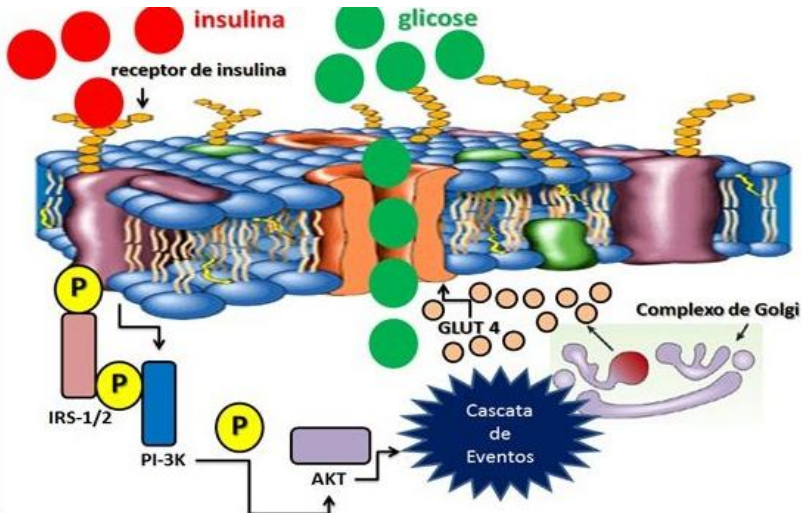


Figura 1 - Sinalização da insulina na captação de glicose. A insulina, ao se ligar ao seu receptor de membrana, promove a autofosforilação da subunidade beta em tirosina e desencadeia uma cascata de sinalizações que convergem na liberação do GLUT-4 do complexo de Golgi, promovendo seu transporte para a membrana celular, o que resulta em entrada de glicose na célula. Fonte: Olson e Pessin, 1996; Foster e Klip, 2000.

Uma importante função da Akt é fosforilar a Foxo, uma proteína da superfamília dos fatores de transcrições *Forkhead*. A Foxo1 foi inicialmente identificada em *C elegans* como um fator de transcrição ativado pela insulina e que se localiza distalmente a via da PI3K. Este fator de transcrição é fosforilado pela Akt em três resíduos de serina e treonina: Thr<sup>24</sup>, Ser<sup>256</sup> e Ser<sup>319</sup>. A fosforilação desses três sítios da Foxo resulta em sua extrusão nuclear e sua consequente inativação (Kops et al., 1999; Barthel et al., 2005; Hay, 2011). As proteínas Foxo podem regular a expressão de genes envolvidos em apoptose, ciclo celular, reparo de DNA, estresse oxidativo, longevidade e controle de crescimento. A via da insulina está muito bem descrita. No entanto, os mecanismos que a ativam ou inibem permanecem por ser mais investigados.

### 1.2.1 Efeitos no músculo esquelético

Em seres humanos, cerca de 90% da captação de glicose estimulada pela insulina ocorre no músculo esquelético (Leto e Saltiel, 2012; Egan e Zierath, 2013). No músculo esquelético, a insulina regula a taxa de transporte da glicose, bem como as atividades da hexoquinase e da 6-fosfofrutoquinase e subsequentemente, a taxa da glicólise. No metabolismo proteico, a insulina aumenta a síntese e diminui a degradação de proteínas, favorecendo processos anabólicos (Dimitriadis et al., 2011).

A entrada de glicose na célula muscular (miócitos) acontece através do transportador GLUT-4. Após a ligação da insulina ao seu receptor específico e ativação do IRS-1, principal isoforma presente no músculo esquelético (Previs et al., 2000), com consequente ativação de PI3K e Akt, o GLUT-4 transloca-se dos sarcolemas do citosol para a membrana plasmática e túbulos T, possibilitando a captação da glicose mediada pela insulina (Gao et al., 1994; Kennedy et al., 1999; Saltiel e Pessin, 2002). Estudo utilizando camundongos *knockout* para GLUT-4 no tecido muscular observaram redução na captação de glicose em condições basais, tanto com o estímulo de insulina quanto durante o exercício físico, o que desencadeia uma elevada resistência à insulina e intolerância à glicose (Zisman et al., 2000). Além disso, a atividade da Akt leva a ativação de vias metabólicas, como a fosforilação da glicogênio quinase 3 (GSK-3), resultando em aumento da síntese de glicogênio. No músculo esquelético, a Akt apresenta três isoformas conhecidas: Akt 1, 2 e 3, sendo a Akt2 a forma mais expressa.

### 1.2.2 Efeitos no tecido adiposo

No tecido adiposo, o aumento de insulina promove a absorção de glicose através da ativação da cascata de sinalização de IR/PI3K/Akt. A ligação da insulina ao seu receptor de membrana (IR) resulta na ativação de PI3K/Akt e translocação do GLUT-4 para a membrana celular, possibilitando a entrada de glicose para a célula (Taniguchi et al., 2006; Thirone et al., 2006). No tecido adiposo, a insulina possui também papel antilipolítico, uma vez que inibe a liberação dos ácidos graxos dos adipócitos, diminuindo a atividade da lipase sensível à hormônio (HSL) e da lipase dos triglicerídeos do tecido adiposo (ATGL) (Duncan et al., 2007) justamente por ativa a fosfodiesterase, que por sua vez reduz os níveis de AMP cíclico. Animais *knockout* para GLUT-4 no tecido

adiposo apresentam prejuízos na tolerância à glicose, hiperinsulinemia e resistência secundária à insulina no músculo esquelético e no fígado (Abel et al., 2001).

### 1.2.3 Efeitos no fígado

O fígado é um órgão metabólico chave na regulação do metabolismo energético corporal. No fígado, a insulina diminui a liberação de glicose pelo fígado para tecidos alvos, por inibir a glicogenólise hepática e a expressão de genes gliconeogênicos (Wahren e Ekberg, 2007). A glicose sanguínea é transportada para o interior dos hepatócitos através dos transportadores de membrana GLUT-2 (Seyer et al., 2013). GLUT-2 também medeia a liberação de glicose do fígado para a corrente sanguínea. No entanto, a ausência de GLUT-2 não afeta a produção hepática de glicose durante o jejum, sugerindo que a glicose pode ser liberada dos hepatócitos por meio de outros transportadores, como o GLUT-1, ou ainda através de outros mecanismos (Seyer et al., 2013).

No fígado, defeito na ação da insulina da síntese de glicogênio e aumento nas taxas de gliconeogênese são fatores importantes que contribuem para a hiperglicemia e resistência à insulina (Magnusson et al., 1992). Defeitos na gliconeogênese hepática são considerados o principal mecanismo que leva à hiperglicemia de jejum no DM2, e, em conjunto com esteatose, é a marca da resistência hepática à insulina (Seppälä-Lindroos et al., 2002; Utzschneider e Kahn, 2006). A atividade da insulina suprime a gliconeogênese hepática, enquanto que a supressão dos receptores de insulina nos hepatócitos aumenta marcadamente a gliconeogênese, resultando em hiperglicemia e intolerância à glicose (Michael et al., 2000). A resistência à insulina é fator determinante para o desenvolvimento de DM2. Ao se ligar aos seus receptores de membrana nos hepatócitos, a insulina leva a ativação destes receptores, convergendo para a fosforilação em tirosina de IRS1 e IRS2 (Saltiel e Kahn, 2001; White, 2002). Quando fosforiladas em tirosina as proteínas IRS1 e 2 ativam a via PI3K / Akt (Saltiel e Kahn, 2001; White, 2002). Por outro lado, a inibição específica de IRS1 e parcialmente de IRS2 no fígado prejudica a ação da insulina; e a deleção completa de ambos bloqueia completamente a ação da insulina hepática, resultando em aumento da gliconeogênese hepática, hiperglicemia e DM2 (Dong et al., 2006). Ativada, Akt fosforila e inativa a proteína Foxo1 no fígado, suprimindo assim a gliconeogênese (Puigserver et al.,

2003; Matsumoto et al., 2007; Haeusler et al., 2010). Em contraste, diminuição de Akt leva a desfosforilação da Foxo1 no resíduo serina 256, promovendo a translocação de Foxo1 do citosol para o núcleo, que ativa genes gliconeogênicos e aumenta a hiperglicemia (Wu et al., 2010). Além disso, insulina estimula a fosforilação de PGC-1 $\alpha$  pela Akt, diminuindo a capacidade de PGC-1 $\alpha$  de ativar genes gliconeogênicos (Li et al., 2007).

Além de regular as taxas de produção e liberação de glicose no fígado, a insulina é o primeiro hormônio que estimula a lipogênese hepática no estado alimentado. No fígado, a via PI3K/Akt é requerida tanto para a supressão da gliconeogênese quanto para a ativação da lipogênese pela insulina. No entanto, lipogênese e gliconeogênese são mediadas por duas distintas vias *downstream* a Akt (Li et al., 2010). Insulina estimula a ativação de mTORC1 pela via PI3K/Akt, o que resulta no aumento da expressão de SREBP-1 e lipogênese (Li et al., 2010). A Akt, particularmente Akt2, estimula a ativação de SREBP-1 e lipogênese (Wan et al., 2011; Yecies et al., 2011), por outro lado, a inibição hepática de Akt inativa tanto a glicólise quanto a lipogênese (Hagiwara et al., 2012). O aumento exacerbado na síntese de lipídeos e nos níveis de ácidos graxos não esterificados saturados levam a resistência à insulina por ativar TLR4 (Shi et al., 2006; Spruss et al., 2009). Fetuina A, uma glicoproteína secretada pelo fígado, atua como carreador de ácidos graxos na circulação e o complexo fetuina A/NEFA liga-se aos receptores TLR4 e promovem a ativação de cascatas de sinalização inflamatória e resistência à insulina (Pal et al., 2012). Citocinas pró-inflamatórias ativam IKK $\beta$  e JNK que inibem a sinalização da insulina (Cai et al., 2005; Hotamisligil et al., 2006). Por outro lado, deleção hepática de IKK $\beta$  melhora a sensibilidade hepática à insulina e reduz a gliconeogênese em animais alimentados com dieta rica em gordura (Arkan et al., 2005).

A sinalização hepática da insulina é negativamente regulada por proteínas fosfatases, que incluem PTP-1B e Shp-1. Inibição de PTP-1B no fígado melhora a sinalização da insulina e sua capacidade em suprimir a gliconeogênese, protegendo contra a esteatose hepática induzida por dieta (Delibegovic et al., 2009). Inibição hepática de Shp1 protege contra resistência à insulina em ratos alimentados com dieta rica em gordura (Xu et al., 2012). Outras proteínas que regulam negativamente a sinalização da insulina no fígado são SOCS1 e SOCS3 (Rui et al., 2002; Ueki et al., 2004). Por outro lado, a via da insulina é positivamente regulada por SH2B1, proteína adaptadora contendo domínio SH2 que recruta as proteínas IRS para o receptor de insulina

(Morris et al., 2009). Deleção de SH2B1 resulta em resistência à leptina, insulina, obesidade e DM2 (Ren et al., 2005; Ren et al., 2007; Morris et al., 2009).

### 1.3 RESISTÊNCIA À INSULINA: ELO ENTRE OBESIDADE E DM2

A prevalência de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) está aumentando a nível mundial em um ritmo alarmante (Meigs, 2010). Estima-se que no ano de 2030, aproximadamente 366 milhões de pessoas sejam diabéticos, sendo mais de 90% deles portadores de DM2 (Wild et al., 2004). O aumento da prevalência de DM2 é fortemente relacionado ao estilo de vida modernizado (supernutrição, alterações ambientais e sedentarismo), que resulta em aumento do número de indivíduos com sobrepeso e obesidade (Khunti et al., 2007). A prevalência de DM2 é aproximadamente sete vezes maior em adultos obesos quando comparados àqueles dentro do peso adequado, principalmente em adultos com IMC  $> 35 \text{ kg/m}^2$ , que são 20 vezes mais propensos a desenvolverem DM2 do que adultos com IMC entre  $18,5 \text{ kg/m}^2$  e  $24,9 \text{ kg/m}^2$  (Mokdad et al., 2003). Estima-se também que para cada 1 kg ganho de peso corporal há 4,5% a mais de risco de desenvolver DM2 (Ford et al., 1997).

Tanto a obesidade quanto o sedentarismo estão subjacentes ao desenvolvimento de resistência à insulina. A resistência à insulina é observada em aproximadamente 90% dos pacientes portadores de DM2 e em 66% dos indivíduos com intolerância à glicose. Resistência à insulina juntamente com disfunção ou apoptose das células  $\beta$  são os dois mecanismos fundamentais para o desenvolvimento de DM2 (Butler et al., 2003; Urbanavičius et al., 2013). Além disso, obesidade central é observada na maioria dos pacientes com DM2, estando associada com resistência à insulina, principalmente ao nível do tecido adiposo, fígado e músculo esquelético (Mokdad et al., 2003; Urbanavičius et al., 2013). A descoberta da infiltração de macrófagos no tecido adiposo visceral e da produção de adipocitocinas permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos que regulam o desenvolvimento de resistência à insulina. Além disso, o aumento da absorção de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e diminuição da taxa de oxidação destes nos obesos, contribui para o acúmulo de metabólitos lipídicos intermediários, o que provoca defeitos na via de sinalização da insulina (Mokdad et al., 2003; Urbanavičius et al., 2013). O aumento celular das concentrações de NEFA inibe a secreção da insulina, estimula a gliconeogênese e

promove severa resistência à insulina (Kashyap et al., 2004; Hansen et al., 2010). Aumento dos níveis plasmáticos de NEFA na obesidade são resultado de três principais eventos fisiopatológicos: (I) insulina inibe a lipólise, através da inibição da lipase sensível à hormônio (HSL) (Il'yasova et al., 2010). A redução da atividade da insulina e consequentemente da supressão da lipólise do tecido adiposo no período pós-prandial é observado em casos de resistência à insulina. Assim, promove a liberação de NEFA para a circulação. (II) redução na oxidação de NEFA. (III) níveis elevados de NEFA inibem os efeitos anti-lipolíticos da insulina, aumentando ainda mais a liberação de NEFA na circulação (Il'yasova et al., 2010).

Conforme (Pauli et al. 2009), na obesidade ocorrem alterações em diversos pontos da via de transdução do sinal da insulina, com diminuição na concentração e atividade quinase do IR, na concentração e fosforilação do IRS-1 e IRS-2, nas atividades da PI3K e Akt e na translocação do GLUT-4. Isso atenua consequentemente a captação de glicose nos tecidos insulino-dependentes como músculo esquelético e tecido adiposo. Vários mecanismos através dos quais ocorre a instalação de resistência à insulina têm sido publicados; destacando-se aqueles induzidos por dieta rica em gordura saturada. A ingestão elevada de gordura saturada ativa os receptores *Tool like receptors* (principalmente o receptor 4 - TLR-4), os quais desempenham uma conexão importante entre o sistema imune inato e o sistema metabólico. Alguns ácidos graxos ao se ligarem a esses receptores de membrana celular, acionam proteínas de respostas pró-inflamatórias como c-jun quinase N-terminal (JNK) e I *KappaB* quinase (IKK) que podem interferir na ação da insulina (Dandona et al., 2004; Tsukumo et al., 2007). A ativação da serina quinase JNK pode interferir na funcionalidade dos substratos do receptor de insulina, que uma vez fosforilados em serina pela JNK, fica comprometida a possibilidade de serem fosforilados em tirosina pelo receptor de insulina, contribuindo para a resistência à transdução do sinal da insulina através dessa via (Hirosumi et al., 2002; Tuncman et al., 2006). Experimentos realizados com roedores relatam que camundongos com mutação genética dessa proteína apresentam melhor captação de glicose, menor depósito de gordura e não desenvolvem resistência à insulina mesmo quando submetidos a uma dieta rica em gordura (Dandona et al., 2004; Tsukumo et al., 2007). Outra via pró-inflamatória que também pode levar à fosforilação em serina de substratos do receptor de insulina é a via IKK/I $\kappa$ B/NF $\kappa$ B (Barbeau et al., 2002). Esta via é considerada uma das vias centrais mediadoras da resposta inflamatória, uma vez que regula a expressão de numerosos

genes pró-inflamatórios imunomoduladores e anti-apoptóticos (Tsukumo et al; 2007).

Estudos apontam que a obesidade e o DM2 também podem estar associados ao estresse de retículo endoplasmático levando ao desequilíbrio das respostas às proteínas não dobradas (UPR). A UPR é caracterizada por uma cascata de sinalização com finalidade de resgatar a qualidade da síntese proteica, atenuando a síntese global de proteínas, aumentando a expressão de chaperonas e quinases dobradoras de proteínas e ativando o sistema de degradação associado ao retículo endoplasmático (ERAD) (Boden et al., 2008). Distúrbios na síntese proteica no retículo endoplasmático, em particular o aumento da síntese de proteínas imaturas, também conhecidas como proteínas *unfolded* (não dobradas) e *misfolded* (mal dobradas), acionam uma resposta adaptativa conhecida como a UPR (Ron e Walter, 2007). A relação entre o estresse de retículo endoplasmático e a susceptibilidade à resistência à insulina foi demonstrada primeiramente *in vitro*. O estresse de retículo endoplasmático é capaz de ativar a via inflamatória por meio da UPR, ou seja, vias como JNK/AP1 e IKK/I $\kappa$ B/NF $\kappa$ B são intensamente ativadas pela UPR, bem como, evidências demonstram que os mediadores inflamatórios, tais como JNK e IKK, podem ter um impacto negativo sobre a função do RE. No contexto da inflamação crônica, evidências apontam que células como adipócitos e hepatócitos podem estar ligadas a um conjunto diversificado de respostas do estresse de RE, que podem ocasionar em respostas imunes aumentadas. De fato, em tecidos adiposo e hepático de ratos alimentados com dieta hiperlipídica a expressão da JNK está significativamente aumentada em comparação à animais magros (Ozcan et al., 2004).

É consenso que citocinas inflamatórias atuam sobre a via de sinalização da insulina, levando à resistência a este hormônio. Por outro lado, o exercício físico pode melhorar a sensibilidade à insulina por reduzir o *status* inflamatório (Zinker et al., 1994).

#### 1.4 EFEITOS MOLECULARES DO EXERCÍCIO FÍSICO NA SINALIZAÇÃO DA INSULINA

O impacto do exercício físico vem sendo demonstrado por pesquisadores e recomendado com o objetivo de recuperar/manter a saúde e o bem estar físico e emocional, garantindo ao indivíduo a melhora da qualidade de vida por meio da perda gradativa de peso ponderal e da reversão das alterações metabólicas e hormonais (Hayashi et al., 1997; Fallon et al., 2001). A prática intermitente de exercício



físico pode contribuir favoravelmente com o sistema circulatório, respiratório, imunológico, entre outros, e reduzir os fatores deletérios ao organismo (Goodyear e Kahn, 1998; Barbeau et al., 2002). A prática regular de exercícios físicos está relacionada à redução da incidência de osteoporose, osteoartrite, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias, DM2 e outros. O exercício físico é considerado um dos pontos cruciais do tratamento e prevenção do DM2. É sabido que o treinamento resistido contribui para elevar a taxa metabólica de repouso e maior síntese de proteínas musculares (Evans, 2001; Souza e Pauli, 2013), assim, resulta em maior massa muscular que exige uma maior energia em repouso a fim da manutenção do tecido. A massa muscular favorece a captação de glicose do músculo, com efeitos na via de sinalização da insulina e na via inflamatória (Souza e Pauli, 2013).

O papel benéfico do exercício físico de *endurance* aeróbio na ação metabólica da insulina é contemplado por inúmeros estudos que procuram elucidar quais são os mecanismos moleculares através dos quais o exercício atua como estimulador fisiologicamente relevante da homeostase da glicose em diferentes tecidos. O exercício potencializa o efeito da insulina por meio do aumento da fosforilação dos IRS, com consequente aumento da atividade da PI3K (Backer et al., 1992). Pesquisas realizadas com ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura, relatam que uma única sessão de natação reduz a fosforilação da JNK, bloqueia a via IKK/NFκB, reduz a fosforilação em serina do IRS1 e a atividade da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP-1B) no músculo gastrocnêmio, reestabelecendo a sensibilidade à insulina 16 horas após o término do exercício (Ropelle et al., 2006). PTP-1B é uma das tirosina-fosfatases que exercem efeitos negativos sobre a sinalização da insulina mediados pela desfosforilação do IR e dos IRS. Estudos realizados com camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e geneticamente modificados que não expressavam PTP-1B, demonstram que os animais com ausência desta proteína apresentam maior sensibilidade à insulina em relação ao tipo selvagem (Elchebly et al., 1999). Outra pesquisa realizada com humanos aponta que uma sessão aguda de exercício físico reduz a fosforilação da JNK e bloqueia a via IκK/NFκB após perfusão de ácidos graxos (Schenk e Horowitz, 2007). Pesquisa realizada em ratos diabéticos demonstrou que o exercício físico aeróbio promove o aumento da atividade da Akt. Assim, animais *knockout* de Akt apresentaram características marcantes de diabetes, tais como hipertrofia das células beta, aumento na produção hepática de glicose, homeostase diminuída da glicose e um aumento significativo da hiperglicemia (Hayashi et al., 1997).

O exercício físico regular está relacionado ao aumento da sensibilidade à insulina independentemente da redução do peso e de mudanças na composição corporal. Neste sentido, (Nassis et al. 2005) observaram que 12 semanas de exercício físico aeróbio, três vezes por semana, melhora a sensibilidade à insulina sem perda de massa corporal ou diminuição do percentual de gordura em indivíduos com sobrepeso e obesos. Em outro estudo, no qual foi realizada intervenção de treinamento resistido durante 16 semanas em adolescentes do sexo masculino obesos, foi observado o benefício do treinamento na melhora da sensibilidade à insulina, sem alterações significativas na composição corporal. Os autores sugerem que mais pesquisas sejam feitas com um programa de treinamento resistido concomitantemente a exercícios aeróbios, pois os mesmos acreditam que os resultados podem ser potencializados (Shaibi et al., 2006). Dessa forma, este efeito é resultado do aumento da expressão e atividade das moléculas que compõe a via de sinalização da insulina (Shaibi et al., 2006).

O papel anti-inflamatório do exercício físico na obesidade tem sido amplamente proposto, com foco nas significativas alterações moleculares na via de sinalização da insulina. Apesar da ação anti-inflamatória do exercício físico estar bem documentada, pouco se sabe como são as respostas anti-inflamatórias mediadas pelo exercício físico resistido (Yu-Ching et al., 2011). Em ratos diabéticos tipo 2 que realizaram um protocolo crônico e agudo de exercício físico aeróbio, ambos os protocolos resultaram em maior captação de glicose por aumentar a expressão das proteínas AMPK, Akt e GLUT4, confirmando a importância do exercício físico na homeostase glicídica (Cao et al, 2012; Yu-Ching et al, 2011).

O treinamento resistido vem despertando interesse em pesquisadores, uma vez que evidencias tem mostrado aumentar a massa muscular e reduzir a massa gorda (Bean, 1999; Strasser e Schobersberger, 2011; Strasser, 2013). Mas seus efeitos sobre a sensibilidade a insulina não estão totalmente elucidados. Evidências levantam a possibilidade de que o treinamento resistido progressivo (TRP) promove um balanço energético negativo e pode alterar a distribuição da gordura corporal e o aumento da massa muscular (Bastard et al., 2006). O treinamento resistido (TR) 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). A longo prazo, o TR poderá promover uma possível melhora nos níveis basais de citocinas que desempenham papel negativo no metabolismo da glicose (Hotamisligil, 2006). Pesquisas apontam um

efeito redutor na expressão de TNF- $\alpha$  em tecido muscular esquelético em resposta aguda (Steensberg et al., 2002) ou crônica (Greiwe et al., 2002) ao exercício físico resistido. No entanto, os efeitos do TR no conteúdo de TNF- $\alpha$  dependem da localização em que a mensuração é realizada: no plasma ou no tecido muscular (Calle et al., 2010). Estudo realizado por (Tokmakidis et al. 2004) avaliou os efeitos do exercício de força em mulheres com DM2 e observaram que este induziu avaliações positivas no controle da glicose, ação da insulina e melhoria da força muscular. Segundo (Ibañes 2005), o treinamento progressivo de força, realizado duas vezes por semana em 9 homens idosos portadores de DM2, diminui a gordura abdominal e promove melhoras significativas em relação a sensibilidade à insulina e a rápida absorção de glicose.

Dunstan et al. (2002) realizaram por seis meses um programa de treinamento progressivo de força de alta intensidade em trinta e seis homens e mulheres sedentários com idade entre sessenta e oitenta anos, portadores de DM2 e sobrepeso. O treinamento foi realizado três vezes por semana durante quarenta e cinco minutos com nove exercícios, sendo executados três séries de 8-10 repetições, com intervalo de sessenta a cento e vinte segundos entre elas. Os resultados mostraram que os indivíduos treinados diminuíram a hemoglobina glicosilada e a glicose plasmática de jejum, além de diminuir as concentrações de insulina em jejum. Outro estudo apontou que o treinamento progressivo de força com intensidade moderada, realizado por três meses em pacientes asiáticos com DM2, aumentou a sensibilidade à insulina, o controle glicêmico e diminuiu as gorduras visceral e periférica (Misra et al., 2008).

Levando em consideração as complicações de um quadro de resistência à insulina, o treinamento resistido de forma progressiva tem sido uma ferramenta relativamente nova utilizada na melhora da sensibilidade à insulina (Hussey et al., 2012). Ratos com obesidade induzida por dieta apresentaram elevação significativa na expressão de mRNA de TNF- $\alpha$  e SOCS3, e quando submetidos a um programa de exercício resistido houve uma redução na expressão destas proteínas após seis meses de treinamento, além de aumento na expressão do GLUT4. Este resultado pode ter ocorrido devido ao efeito anti-inflamatório da atividade contrátil do músculo esquelético durante o treinamento resistido (Lambernd et al., 2011). Diante dessas evidências, podemos afirmar que o treinamento progressivo de força pode ser benéfico sobre as variáveis metabólicas, ajudando na prevenção e no controle do DM2. Exercícios físicos resistidos têm se mostrado eficazes no controle glicêmico de pacientes com DM2. Muitas estratégias para

melhorar a ação da insulina em indivíduos obesos e diabéticos têm sido utilizadas. Em adição, não há pesquisas conclusivas dos efeitos do exercício resistido no aumento da transdução do sinal insulínico em indivíduos obesos. Neste contexto, o presente estudo objetivou investigar o efeito dos diferentes protocolos de exercícios resistidos: resistência muscular, força e hipertrofia sobre a via molecular de sinalização da insulina em músculo esquelético, fígado e tecido adiposo de camundongos *swiss* obesos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do treinamento de resistência muscular, de força e de hipertrofia sobre a via de sinalização da insulina em músculo esquelético, fígado e tecido adiposo de camundongos *swiss* magros e obesos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar os efeitos do treinamento de resistência muscular, de força e de hipertrofia no peso corporal e índice de adiposidade em camundongos magros e obesos;
- Verificar os efeitos do treinamento de resistência muscular, de força e de hipertrofia sobre os níveis séricos de lactato e glicose de camundongos magros e obesos;
- Verificar os efeitos do treinamento de resistência muscular, de força e de hipertrofia sobre as citocinas pró- inflamatórias em camundongos magros e obesos;
- Verificar os efeitos do treinamento de resistência muscular, de força e de hipertrofia sobre a fosforilação de Akt, em músculo esquelético, tecido adiposo e fígado de camundongos magros e obesos.

### 3 MÉTODOS

#### 3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC (protocolo 053/2014-1). Todos os experimentos respeitaram estritamente os princípios éticos da experimentação animal.

#### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS E DIETA

Foram utilizados 80 camundongos *Swiss* machos, recebidos com quatro semanas de vida e peso inicial de 25g, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), mantidos em ciclos de 12 horas claro e 12 horas escuro, ambiente com 70% de umidade e com temperatura entre 20°C e 22°C, alojados em gaiolas de poliuretano com cobertura metálica (dez animais por caixa), alimentados com ração padrão para roedores e água *ad libitum* durante o período de adaptação.

Após período de adaptação, os camundongos foram inicialmente divididos aleatoriamente em dois grupos: camundongos alimentados por 17 semanas com dieta padrão para roedores (carboidrato 70%; proteína 20%; gordura 10%, totalizando 3,8kcal/g), denominado grupo controle (C) e camundongos alimentados por 17 semanas com dieta hiperlipídica (DH) (carboidrato 38,5%; proteína 15%; gordura 46,5%, totalizando 5,4 kcal/g).

Tabela 1 - Composição nutricional da dieta padrão e dieta hiperlipídica

Ingredientes	Dieta padrão		Dieta hiperlipídica	
	(g kg - 1)	Kcal kg - 1	(g kg - 1)	Kcal kg - 1
Amido (Q.S.P.)	397.5	1590	115.5	462
Caseína	200	800	200	800
Amido de milho dextrinizado	100	400	100	400
Sacarose	132	528	132	528
Óleo de soja	70	630	40	360
Banha	-	-	312	2808
Celulose microfina (fibra)	50	-	50	-
Mix minerais	35	-	35	-
Mix vitaminas	10	-	10	-
L-Cistina	3	-	3	-
Bitartarato de colina	2,5	-	2,5	-
<b>Somatório Total</b>	<b>1000</b>	<b>3948</b>	<b>1000</b>	<b>5358</b>

Fonte: Da Autora.



Figura 2 - Figura representativa mostrando camundongos swiss alimentados por 17 semanas com dieta padrão 43,7g (45g) (esquerda) e dieta hiperlipídica 52,1g (76g) (direita).

Tem sido demonstrado que camundongos tratados com dieta rica em ácido graxo saturado exibem marcante resistência à insulina corporal total (De Souza et al., 2005). Após a instalação do quadro de resistência à ação da insulina (sugerida através da dosagem da glicemia basal), os animais foram distribuídos randomicamente em oito (8) grupos experimentais (n=10):

Grupo 1 – Dieta padrão, não treinado (DPNT);

Grupo 2 – Dieta padrão, treinamento de resistência muscular (DPTR);

Grupo 3 – Dieta padrão, treinamento de hipertrofia (DPTH);

Grupo 4 – Dieta padrão, treinamento de força (DPTF);

Grupo 5 – Dieta hiperlipídica, não treinado (DHNT);

Grupo 6 – Dieta hiperlipídica, treinamento de resistência muscular (DHTR);

Grupo 7 – Dieta hiperlipídica, treinamento de hipertrofia (DHTH);

Grupo 8 – Dieta hiperlipídica, treinamento de força (DHTF).

### 3.3 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

Os procedimentos de treinamento foram sempre realizados no período vespertino, com início às 14h00min. Os camundongos receberam água e alimento *ad libitum*.

Neste estudo foi utilizado o protocolo de treinamento resistido progressivo (TRP) adaptado de do estudo de Scheffer et al. (2012). No



estudo de scheffer o protocolo de TRP consistiu de 12 semanas de treinamento realizados em dias alternados (dia sim, dia não). Os animais foram submetidos a uma semana de adaptação ao protocolo de treinamento, o qual exige que os animais escalem uma escada vertical (1,1 x 0,18 m; degrau de 2 cm; inclinação de 80°) com pesos presos a suas caudas por fita auto-adesiva (figura 2). No momento em que os animais escalaram cinco vezes a escada sem estímulo foram considerados adaptados. No topo da escada os camundongos alcançam uma gaiola (20 x 20 x20 cm). Estes treinamentos propõem a mimetização em camundongo das adaptações fisiológicas positivas do treinamento resistido vistas em humanos (Hornberger Jr e Farrar, 2004). A diferença entre o estudo de Scheffer e o presente estudo foi o tempo (em semanas) de treinamento. No presente estudo utilizou-se 10 semanas e não 12 semanas de treinamentos.

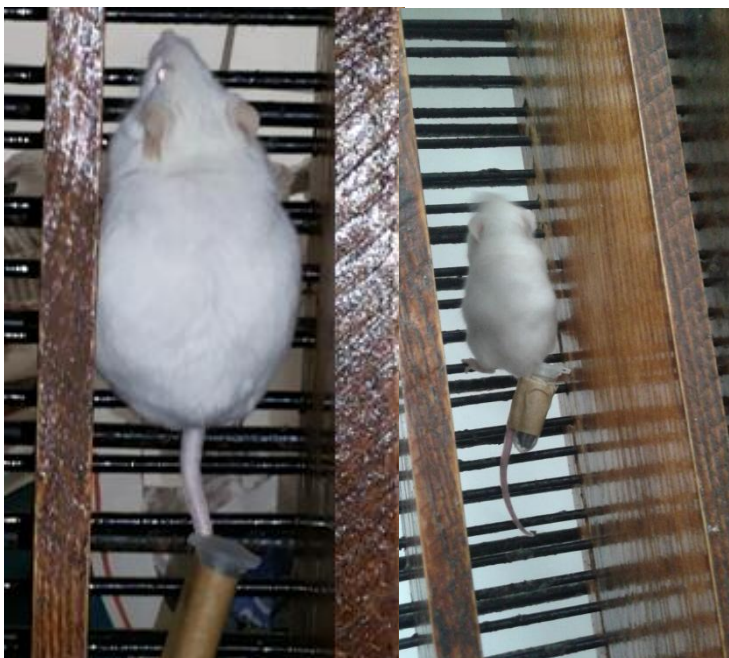


Figura 3 - Foto de aparato para treinamento resistido em escada.

### 3.3.1 Protocolo de treinamento de resistência muscular (TR)

O treinamento de resistência consistiu em o camundongos subir as escadas (o aparato) com a carga inicial de 10% da massa corporal, aumentando progressivamente para 20%, 30%, 40% e 50%, 3 a 6 séries, 12-15 repetições com 2 minutos de intervalo, em dias alternados (dia sim / dia não) , durante 10 semanas.

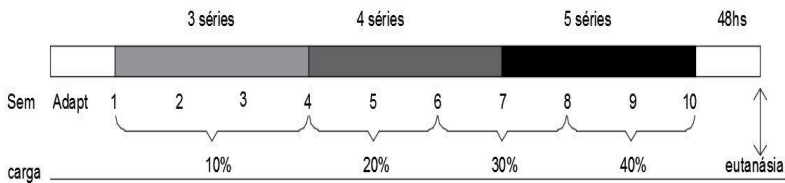


Figura 4 - Protocolo de treinamento de resistência muscular.

Fonte: Adaptado à Scheffer et al. (2012).

### 3.3.2 Protocolo de treinamento de força (TF)

Os animais submetidos ao treinamento de força realizaram a subida ao aparato com a carga inicial de 50% da massa corporal, aumentando progressivamente para 75%, 100%, 125%, 150% e 200%, 3 a 6 séries, 4-5 repetições com 2 minutos de intervalo, em dias alternados (dia sim / dia não), durante 10 semanas.

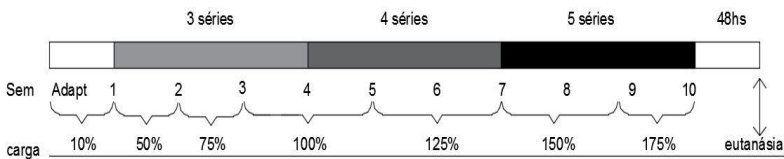


Figura 5 - Protocolo de treinamento de força.

Fonte: Adaptado à Scheffer et al. (2012).

### 3.3.3 Protocolo de treinamento de hipertrofia (TH)

O treinamento de hipertrofia consistiu em subir o aparato com a carga inicial de 25% da massa corporal, aumentando progressivamente para 50%, 75% e 100%, 3 a 6 séries, 8-12 repetições com 2 minutos de intervalo, em dias alternados (dia sim / dia não), durante 10 semanas.

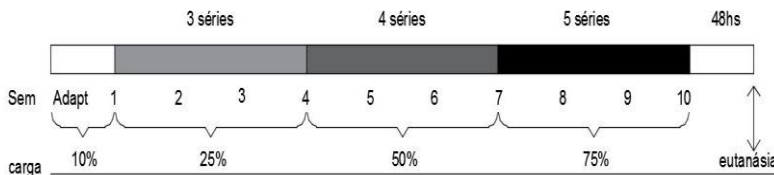


Figura 6 - Protocolo de treinamento de hipertrofia.

Fonte: Adaptado à Scheffer et al. (2012).

### 3.4 TESTE DE CITOCINAS SÉRICAS (TNF-A E IL-1B)

As dosagens das citocinas IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  foram realizadas através do método de ELISA, segundo as especificações do fabricante (R&D Systems).

### 3.5 TESTE DE LACTATO

A coleta de sangue para análise de lactato foi realizada imediatamente após a última sessão de treino, ou seja, semana dez (10) de treino. O sangue foi coletado através da artéria caudal. Após realizar assepsia do local com álcool 70%, as amostras de 15 $\mu$ L de sangue foram coletadas a partir de capilares de vidro calibrados e heparinizados, sendo depositadas em microtúbulos Eppendorff contendo 30 $\mu$ L de fluoreto de sódio (NaF) a 1%, para análise das concentrações sanguíneas de lactato através do método eletroenzimático em um analisador bioquímico (Yellow Springs 2700 S).

### 3.6 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

Após a eutanásia dos animais realizou-se a extração e pesagem dos tecidos adiposos epididimal, mesentérico, perirenal e retroperitoneal em balança analítica (Bel Mark M254AI, Bel, Itália), para comparação entre os grupos. O peso da gordura corporal foi expresso como o percentual do peso corporal total.

### 3.7 ANÁLISES DOS NÍVEIS PROTEICOS E DE FOSFORILAÇÃO DA AKT POR WESTERN BLOTTING

Quarenta e oito horas após a última sessão de exercício físico os animais foram eutanasiados por guilhotina, e os tecidos do quadríceps, fígado e adiposo (epididimal) foram extraídos e imediatamente homogeneizados em tampão específico contendo 1% de Triton X 100, 100 mM de Tris (pH 7,4), 100 mM de pirofosfato de sódio, 100 mM de fluoreto de sódio, 10 mM de EDTA, 10 mM de vanadato de sódio, 2 mM de PMSF e 0,1 mg / mL de aprotinina a 4°C com Polytron MR 2100 (Kinematica, Suíça). Em se tratando de células, a homogeneização foi realizada utilizando ponteira e pipeta P100 Eppendorf (Hamburgo, Alemanha). O homogeneizado foi então centrifugado a 11000 rpm por 30 minutos a 4° C. No sobrenadante determinou-se a concentração de proteínas totais (por teste colorimétrico), utilizando-se para isso o método de Bradford (Bradford, 1976). As proteínas foram ressuspensas e conservadas em tampão Laemmli, contendo 100 mmol/L de DTT (Laemmli, 1970) e realizou-se a determinação do *immunoblotting* com anticorpos específicos. Para isso, alíquotas contendo 250 µg de proteína por amostra foram aplicadas sobre gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). A eletroforese foi realizada em cuba Mini-PROTEAN® Tetra electrophoresis system (Bio-Rad, Hércules, Estados Unidos da América), com solução tampão para eletroforese. As proteínas separadas no SDS-PAGE foram transferidas para a membrana de nitrocelulose, utilizando-se o equipamento de eletrotransferência Mini Trans-Blot® Electrophoretic Transfer Cell (Bio-Rad, Hércules, Estados Unidos da América). As membranas de nitrocelulose contendo as proteínas transferidas foram incubadas em solução bloqueadora por 2 horas, à temperatura ambiente, para diminuir as ligações proteicas inespecíficas. A seguir, as membranas foram incubadas com anticorpos primários específicos anti-Akt e anti-pAkt<sup>ser473</sup>, adquiridos da Santa Cruz Biotechnology (Califórnia, Estados Unidos da América), sob agitação constante e *overnight* à 4°C. A seguir, as membranas foram incubadas

em solução com anticorpo secundário conjugado com peroxidase, durante 2 horas à temperatura ambiente. Após, as membranas foram incubadas por dois minutos em substrato enzimático e expostas ao filme de RX em cassete de revelação radiográfica. A intensidade das bandas foi determinada através da leitura das radiografias por densitometria ótica, utilizando um *scanner* (HP G2710) e o programa *Scion Image* (Scion Corporation, Frederick, Estados Unidos da América).

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), e analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste post hoc Tukey. Adotou-se nível de significância  $p < 0.05$ . A análise estatística foi realizada através do software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 para Microsoft Windows.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 LACTATO SANGUÍNEO

A intensidade do treinamento foi aferida através do lactato sanguíneo. Os níveis de lactato sanguíneo foram avaliados imediatamente após a última sessão de treinamento. Não houve diferença nas concentrações de lactato sanguíneo entre os grupos de treinamento de resistência, hipertrofia e força quando comparado aos respectivos controles (não treinados) magros e obesos (figura 7). Esses resultados demonstram que o aumento da carga (aumento do peso fixado à cauda do animal) ocorreu de maneira constante e igualitária. A obesidade (comparado magro versus obeso) também não alterou as concentrações de lactato sanguíneo (figura 7). Os níveis de lactato sanguíneo nos dois grupos de animais não treinados (DPNT e DHNT) não foram avaliados.

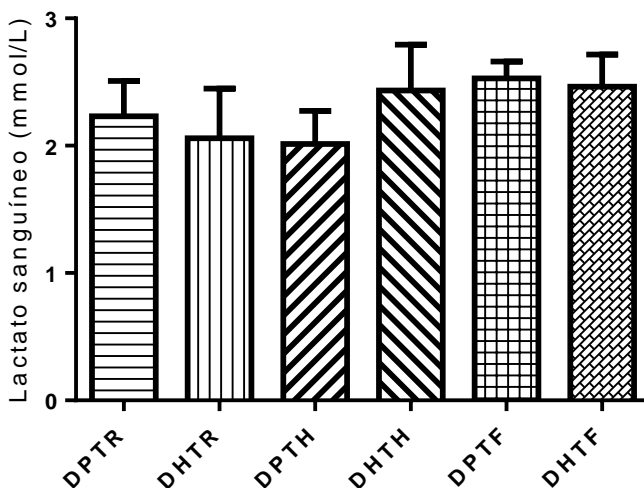


Figura 7 - Concentrações de lactato sanguíneo. Comparação das concentrações de lactato sanguíneo entre os diferentes tipos de treinamentos. Os níveis de lactato sanguíneo não diferem entre os tipos de treinamento. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de

hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

## 4.2 PESO CORPORAL

O peso corporal dos animais mostrou ser homogêneos intragrupo, ou seja, os animais alimentados com dieta padrão mostrou bastante homogeneidade. O mesmo ocorreu com os animais do grupo obeso. dos animais alimentados com dieta padrão, bem como não havia diferença entre os grupos alimentados com dieta hiperlipídica (dados não mostrados).Após dez semanas de treinamento e quarenta e oito horas antes da eutanásia, o peso corporal dos camundongos apresentou uma redução significativa em todos os grupos de treinamento – resistência, hipertrofia e força – alimentados com dieta hiperlipídica quando comparado com o grupo dieta hiperlipídica não treinado (DHNT) (Figura 8A). Ao serem verificados os efeitos do treinamento de resistência muscular, de hipertrofia e de força no índice de adiposidade em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica observou que os grupos de treinamento de hipertrofia e de força apresentaram um índice de adiposidade menor em comparação com o grupo não treinado (DHNT). O grupo que treinou resistência (DHTR) não mostrou diferença no índice de adiposidade nem com o grupo DHNT nem com os demais grupos treinados (figura 8B). Não houve diferença estatística entre os grupos de treinamento alimentados com DP, não demonstraram (Figura 8B).

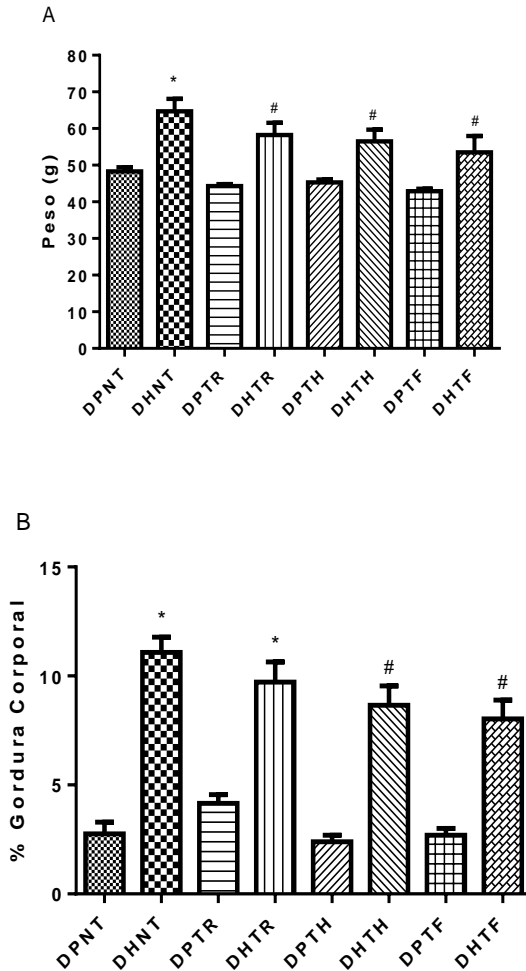


Figura 8 - Peso corporal e índice de adiposidade em camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Peso corporal (A) avaliado na semana 10 (ao final do período de treinamento e antes da eutanásia) e índice de adiposidade (B) (soma do tecido adiposo mesentérico; epididimal; retroperitoneal; perirenal/peso corporal\*100). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo DPNT e # $p < 0,05$  em comparação ao grupo DHNT. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta



hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

### 4.3 GLICEMIA BASAL

Para verificar se a alimentação dos camundongos *swiss* com a dieta hiperlipídica resultou em aumento dos níveis de glicemia nesses animais, foi analisada a glicemia sanguínea basal (6 horas de jejum), após completar-se 17 semanas de alimentação com tal dieta (figura 9A). Pode-se observar marcante diferença ( $p < 0,001$ ) entre o grupo de camundongos magros (alimentados com dieta padrão) e o grupo de camundongos obesos (dieta hiperlipídica) (figura 9A). Após isso, iniciou-se o período de treinamento, que durou 10 semanas. Ao final das 10 semanas, nova avaliação de glicemia foi realizada, para assim determinar se o treinamento alteraria os níveis de glicose sanguínea. Como pode observar na figura (9B), nenhum tipo de treinamento foi eficaz em reduzir os níveis de glicose sanguínea significativamente.

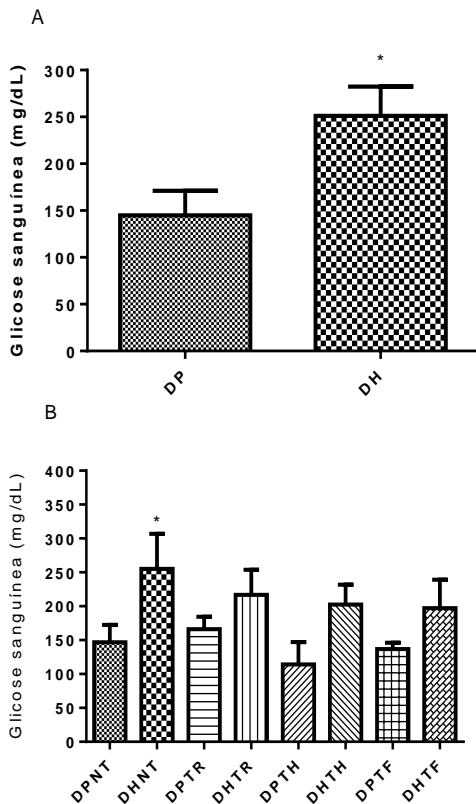


Figura 9 - Glicose sanguínea basal em camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos ou não a diferentes protocolos de treinamento físico. Glicose sanguínea basal antes do início do período de treinamento físico (A), Glicose sanguínea basal após o período de treinamento físico (ao final do período de treinamento e antes da eutanásia) (B). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo DPNT. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

### 4.3 NÍVEIS TECIDUAIS DE CITOCINAS PRO-INFLAMATÓRIAS: TNF $\alpha$ E IL1- $\beta$

Sabendo que a obesidade está estritamente associada com um quadro inflamatório crônico, foi avaliada importantes citocinas pró-inflamatórias, como o TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (figuras 10-12). Nenhuma diferença pode ser observada nos níveis de TNF $\alpha$  no fígado quando comparados camundongos magros e obesos (figura 10A). Os diferentes treinamentos também não demonstraram alterar os níveis dessa citocina (figura 10A). Ainda no fígado, pode se observar que o comportamento dos níveis de IL-1 $\beta$  tiveram resultados similares aos de TNF $\alpha$ , ou seja, nenhuma diferença foi encontrada (figura 10B). O principal tecido a produzir e secretar as citocinas pró-inflamatórias é o tecido adiposo. Como a dieta hiperlipídica aumentou em muito o tecido adiposo nos camundongos, esperava-se, então um marcante aumento das citocinas nesse tecido. De fato, pode-se observar diferença significativa entre os grupos magros e obesos nos níveis de TNF $\alpha$  (figura 11A). Por outro lado, o treinamento mostrou-se eficaz em reduzir os níveis de TNF $\alpha$  nos grupos obesos com treino de hipertrofia e de força comparados aos grupos obesos não treinado, mas não no treino de resistência (figura 11A). Quanto aos níveis de IL-1 $\beta$  no tecido adiposo, observou-se diferença significativa entre os grupos magros e obesos (figura 11B), mas nenhum treinamento mostrou reduzir os níveis dessa citocina (figura 11B). Por fim, nenhuma diferença pode ser observada nos níveis de TNF $\alpha$  no músculo gastrocnêmio quando comparados camundongos magros e obesos (figura 12A). Os diferentes treinamentos também não demonstraram alterar os níveis dessa citocina (figura 12A). Ainda no gastrocnêmio, pode se observar que o comportamento dos níveis de IL-1 $\beta$  tiveram resultados similares aos de TNF $\alpha$ , ou seja, nenhuma diferença estatística foi observada quando comparado os 8 grupos avaliados (figura 12B).

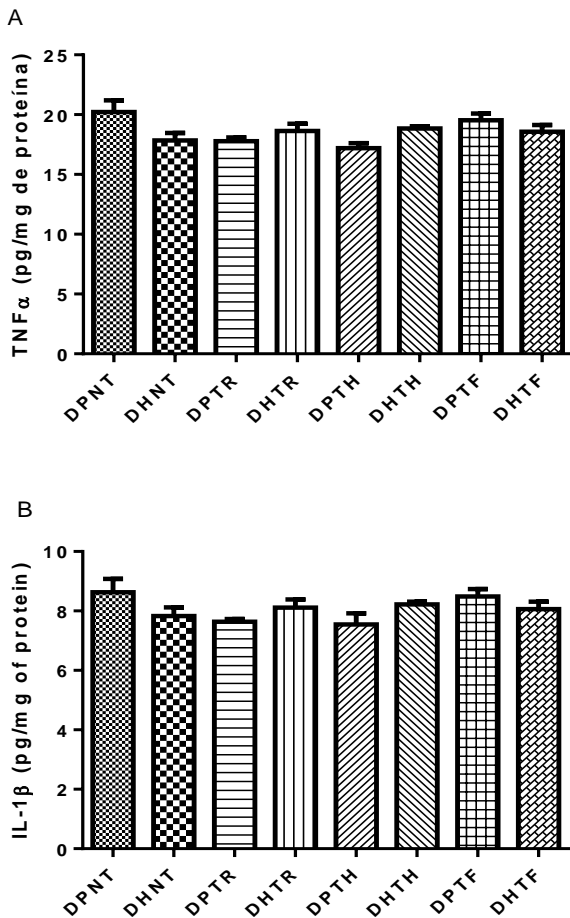


Figura 10 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em fígado de camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Níveis de TNF $\alpha$  (A) e IL-1 $\beta$  (B) em fígado. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

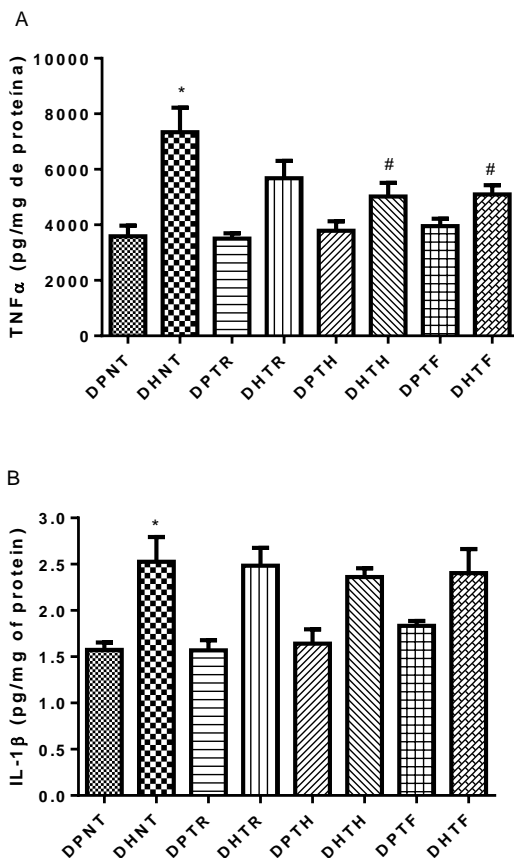


Figura 11 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em tecido adiposo de camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Níveis de TNF $\alpha$  (A) e IL-1 $\beta$  (B) em tecido adiposo. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo DPNT e # $p < 0,05$  em comparação ao grupo DHNT. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

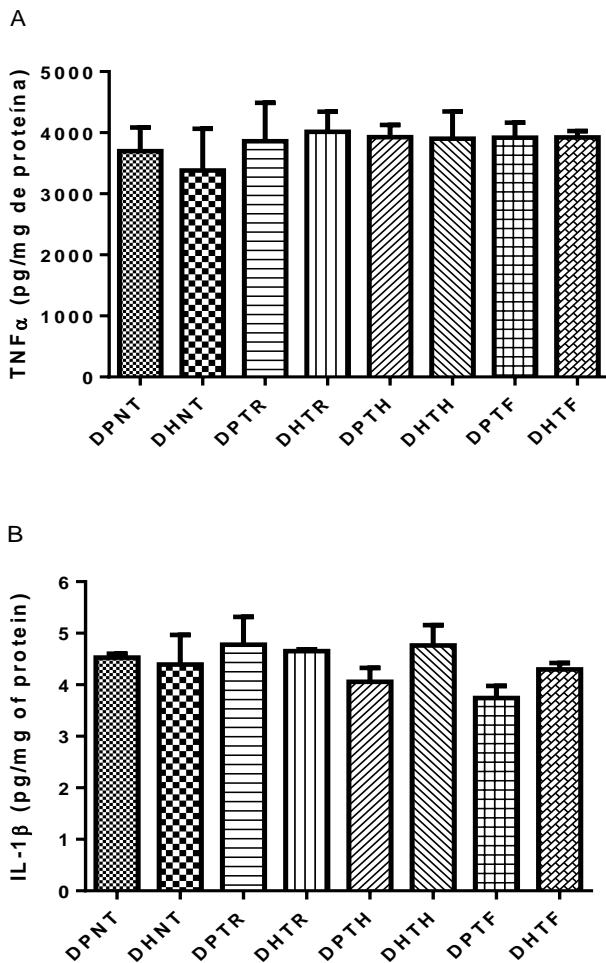


Figura 12 - Níveis teciduais de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em músculo gastrocnêmio de camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Níveis de TNF $\alpha$  (A) e IL-1 $\beta$  (B) em gastrocnêmio. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.

#### 4.4 FOSFORILAÇÃO DA AKT<sup>SER473</sup> EM FÍGADO, ADIPOSEO E MÚSCULO GASTROCNÊMIO

Os níveis proteicos de pAkt foram avaliados nos tecidos hepático, adiposo e muscular. A fosforilação da Akt no tecido hepático não foi diferente entre os grupos magros e obesos não treinados (figura 13A). Por outro lado, todos os treinamentos tanto em camundongos magros quanto obesos foram eficazes em aumentar os níveis de fosforilação quando comparado com ambos grupos não treinados (figura 13A). A fosforilação da Akt no tecido adiposo apresentou resultados similares àqueles encontrados no tecido hepático, ou seja, os níveis de fosforilação da Akt no tecido adiposo não foram diferentes entre os grupos magros e obesos não treinados (figura 13B). Portanto os treinamentos tanto em camundongos magros quanto obesos foram eficazes em aumentar os níveis de fosforilação quando comparado com ambos grupos não treinados (figura 13B). A fosforilação da Akt no tecido muscular não foi diferente entre todos os grupos avaliados (figura 13C), mostrando que tanto a obesidade quanto o treinamento alteraram os níveis de fosforilação da Akt.

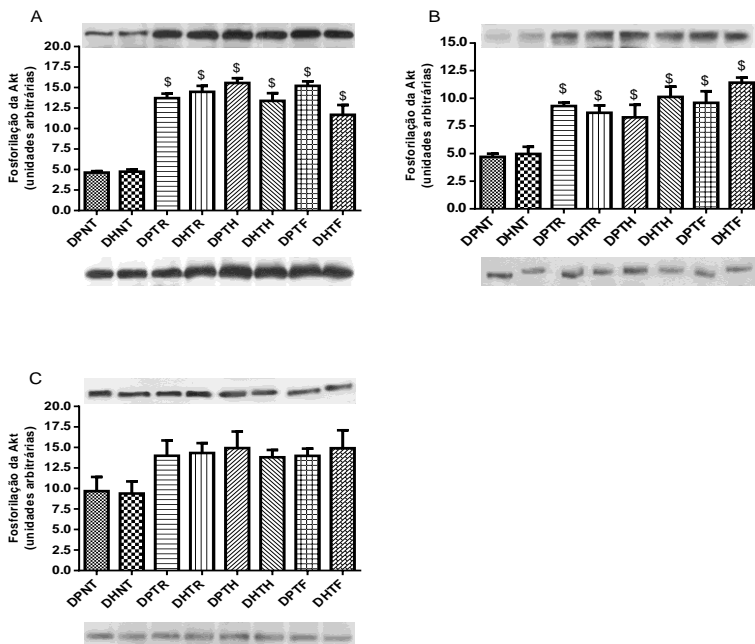


Figura 13 - Fosforilação da Akt em fígado, adiposo e músculo esquelético de camundongos swiss alimentados com dieta padrão e com dieta hiperlipídica submetidos a diferentes protocolos de treinamento físico. Níveis de fosforilação da Akt em fígado (A); Níveis de fosforilação da Akt em tecido adiposo (B), e níveis de fosforilação em músculo gastrocnêmio (C). No painel superior são apresentadas as bandas representativas da pAkt e no painel inferior são apresentadas as bandas representativas da Akt total. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM de um tamanho amostral igual a 4 de um pool de camundongos conforme apontado na seção materiais e métodos. \$  $p < 0,05$  em comparação aos grupos DPNT e DHNT. DPTR=dieta padrão treinamento de resistência; DHTR=dieta hiperlipídica treinamento de resistência; DPTH=dieta padrão treinamento de hipertrofia; DHTH=dieta hiperlipídica treinamento de hipertrofia; DPTF=dieta padrão treinamento de força e DHTF=dieta hiperlipídica treinamento de força.



## 5 DISCUSSÃO

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública, sendo considerada uma epidemia global pela *World Health Organization* (WHO, 2000). O aumento na gordura corporal é acompanhado de profundas alterações nas funções fisiológicas do organismo, sendo a deposição de tecido adiposo na região intra-abdominal um dos principais contribuintes para o desenvolvimento de doenças, tais como aterosclerose, dislipidemias, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 (Juonala et al., 2011; Tateya et al., 2013). Dentre as principais alternativas não farmacológicas para o tratamento da obesidade encontram-se a restrição calórica e o exercício físico (Racette et al., 2003; Pappachan et al., 2011; Sertié et al., 2015). A realização de atividade física regular tem sido considerada como primeira linha de tratamento contra a obesidade (Gonçalves et al., 2015). Em adição, está bem descrito na literatura, que o exercício físico melhora a sensibilidade à insulina (Bradley et al., 2008; Abd El-Kader, 2011; Marinho et al., 2014; Yu et al., 2016). Segundo pesquisa realizada pelo Colégio Americano de Medicina Esportiva juntamente com a Associação Americana do Diabetes (2010), a maioria dos benefícios da atividade física no tratamento do diabetes tipo 2 está relacionada às respostas agudas e crônicas sobre a ação da insulina, tanto nos exercícios aeróbios quanto nos exercícios resistidos (Colberg et al., 2010).

Portanto, o exercício físico é considerado uma importante estratégia para a prevenção e tratamento da resistência à insulina e do DM2, condições normalmente encontradas no indivíduo obeso. Estudos realizados com células *in vitro*, modelos experimentais de animais e também em humanos, demonstram que uma única sessão de exercício físico é capaz de aumentar a sensibilidade à insulina, efeito associado a maior fosforilação da proteína Akt. Consequentemente, observou-se aumento da expressão e translocação do GLUT-4 e maior captação de glicose pelo músculo esquelético ocasionado pelo exercício físico (Bruss et al., 2005; Frosig et al., 2007; Marinho et al., 2013). Além disso, o exercício físico está relacionado com aumento na captação de glicose em outros tecidos. Estudo realizado com ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica (DH) observou melhora na sensibilidade à insulina no fígado e no tecido adiposo após oito semanas de exercício, resultado atribuído principalmente à redução de moléculas inflamatórias (Da Luz et al., 2011).

Está claramente estabelecido na literatura que o exercício físico melhora a sensibilidade à insulina, porém ainda não está completamente elucidado qual o melhor protocolo de exercício para pacientes obesos com resistência à insulina ou DM2. Apesar de existir uma predominância de pesquisas e indicações pelo treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade (Venables e Jeukendrup, 2008; Strasser, 2013), atualmente algumas pesquisas têm questionado se o treinamento aeróbio é o melhor exercício para o tratamento da obesidade (Slentz et al., 2011; Leite et al., 2013; Souza et al., 2014; Drenowatz et al., 2015; Hunter et al., 2015; Mekary et al., 2015; Shen et al., 2015). Diante disso, o presente estudo buscou investigar as possíveis alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares promovidas por três diferentes protocolos de exercício - resistência, força e hipertrofia - realizado durante dez semanas, sobre a via de sinalização da insulina nos seguintes tecidos: músculo esquelético, fígado e tecido adiposo de camundongos *swiss* obesos induzidos por DH.

No presente estudo, os níveis de lactato foram avaliados imediatamente após a última sessão de treinamento. Segundo Wilmore e Costill (2001), a concentração de lactato sanguíneo pode ser utilizada para controlar a intensidade do treinamento, sendo uma maneira de monitorar as adaptações musculares. Não foi observada diferença estatística nos níveis de lactato sanguíneo neste estudo, sugerindo que, apesar de serem protocolos diferentes, as intensidades dos três protocolos de treinamento foram iguais.

Para os camundongos tornarem-se obesos, a DH foi consumida por um período de 17 semanas antes de iniciar os protocolos de treinamento. No início do treinamento, os animais que consumiram DH já apresentavam obesidade, resultando em um aumento significativo no peso corporal, que permaneceu elevado até o fim do experimento em comparação com os camundongos alimentados com dieta padrão (DP). Estudos têm demonstrado que o tratamento de camundongos *swiss* com dieta rica em gordura saturada leva a marcante obesidade (De Souza et al., 2005; Marinho et al., 2013) e conseqüentemente promove os efeitos deletérios relacionados a essa doença, como o aumento de tecido adiposo, aumento da insulina de jejum e o desenvolvimento de dislipidemias (Estadella et al., 2004; Samaan et al., 2014).

Ainda em relação ao peso corporal, independente do protocolo de exercício utilizado neste estudo, os animais alimentados com DH e treinados reduziram o peso corporal quando comparado ao grupo DH não treinado. Resultados semelhantes foi observado por Mardare et al. (2016) que realizaram treinamento de força e de resistência durante dez

semanas com camundongos C57BL/6 tratados com DH. Os autores observaram um aumento de peso corporal no grupo tratado com DH quando comparado com o grupo DP. Em adição, os dois protocolos de exercício realizados em camundongos alimentados com DH reduziram significativamente o peso corporal em relação ao grupo DH não treinado (Mardare et al., 2016).

No presente estudo foi avaliado também, o índice de adiposidade dos animais. Quando comparado somente os camundongos alimentados com DH, pode-se observar que os treinamentos de hipertrofia e força foram eficazes em reduzir o índice de adiposidade quando comparado ao grupo não treinado. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos de (Leite et al., 2013; Souza et al., 2014). Alguns estudos sugerem potenciais mecanismos para a redução de massa corporal e índice de adiposidade em treinamentos de força e hipertrofia (treino resistido), principalmente por aumentar a massa muscular levando a um aumento na taxa metabólica basal e, assim, resultando na diminuição da gordura corporal (Schmitz et al., 2003; Donnelly et al., 2009). O treino resistido pode ser utilizado na prevenção e tratamento da obesidade, como já sugerido por alguns autores (Strasser e Schobersberger, 2011; Willis et al., 2012) uma vez que pode aumentar o gasto energético (24h) e a oxidação de gordura para manutenção do equilíbrio de energia e prevenção do ganho de peso corporal (Kirk et al., 2009). Assim, a implementação do treino resistido pode ser uma intervenção eficaz no combate a obesidade.

Em contrapartida, o treinamento de resistência não apresentou diferença estatística no índice de adiposidade, contrariamente a diversos estudos pregressos (Slentz et al., 2011; Willis et al., 2011; Sertié et al., 2015). Estudos relatam que o treinamento aeróbio demonstra ser eficaz na redução do tecido adiposo visceral, no entanto, existe uma relação principalmente com a intensidade e volume do exercício para tal efeito (Ismail et al., 2012). Alguns estudos têm demonstrado que a combinação de treino resistido com treinamento aeróbico (resistência) resulta em maior eficácia para redução do peso corporal e de gordura (Park et al., 2003; Church et al., 2010) e aumento de massa corporal magra (Park et al., 2003; Arciero et al., 2006) quando comparado ao exercício aeróbio realizado de forma isolada.

Os mecanismos moleculares para o desenvolvimento de resistência à insulina relacionados à obesidade vêm sendo pesquisados intensamente. Assim, evidências científicas relatam que o excesso de tecido adiposo e o consumo elevado de gorduras saturadas são capazes de aumentar proteínas inflamatórias que interferem na via de sinalização

da insulina. Desse modo, a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática é prejudicada e conseqüentemente a captação de glicose pelas células é reduzida (Lê et al., 2011; Holland et al., 2011). Como esperado, no presente estudo a DH resultou em um aumento significativo da glicose sanguínea quando comparado com os camundongos alimentados com DP. O mesmo resultado foi observado por diversos autores (Saaman et al., 2014; Williams et al., 2014; Liu et al., 2015).

O exercício físico tem se mostrado uma importante estratégia para redução da glicemia em obesos resistentes à insulina (Saaman et al., 2014). No presente estudo observou-se que o treinamento de resistência, hipertrofia e força foram eficazes na redução da glicose sanguínea. Este resultado pode ser atribuído ao efeito do exercício físico sobre a redução na fosforilação em serina dos substratos do receptor da insulina (Da Silva et al., 2010), redução de fosfatases (De Moura et al., 2013) e citocinas (Pauli et al., 2009), além de diminuir o estresse de retículo endoplasmático (Da Luz et al., 2011), entre outros.

O modelo de obesidade induzido por DH constitui uma situação fisiológica de aumento de citocinas inflamatórias, que diminuem a fosforilação em tirosina e aumentam a fosforilação em serina de moléculas importantes da via da insulina (como por exemplo, o IRS1/2), comprometendo a regulação da homeostase energética (De Souza et al., 2005). No presente estudo, foram analisados os níveis teciduais de importantes citocinas inflamatórias, como o TNF $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , em fígado, tecido adiposo e músculo esquelético. Os níveis proteicos de TNF $\alpha$  não foram alterados no fígado e músculo esquelético dos camundongos obesos quando comparado com os magros. Além disso, nenhum dos protocolos de exercício físico alterou significativamente os níveis dessa citocina inflamatória. O mesmo resultado foi observado quando avaliado a IL-1 $\beta$  nos respectivos tecidos. Porém, no tecido adiposo pode-se observar alterações de ambas citocinas. TNF $\alpha$  aumentou no grupo obeso não treinado (DHNT) e os treinamentos de hipertrofia e força foram capazes de reduzir significativamente os valores dessa citocina, quando comparado ao grupo DHNT. Em relação aos níveis de IL-1 $\beta$ , somente o grupo DHNT teve aumento significativo quando comparado ao DPNT.

Estudos têm demonstrado importante redução nos níveis sorológicos de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em animais e humanos obesos que praticam exercício físico (da Luz et al., 2011; Oh et al., 2013; Wang, 2013). Quando avaliado especificamente os níveis teciduais, Kawanishi et al. (2012) realizaram por 16 semanas exercício aeróbio em camundongos obesos induzidos por DH. Os autores avaliaram os efeitos

do exercício sobre a inflamação hepática e observaram um aumento nos níveis hepáticos de TNF $\alpha$  em animais tratados com DH, e uma redução quando estes realizaram exercício. Esse resultado também foi observado na expressão do RNA mensageiro hepático, diferentemente da IL-1 $\beta$ , que acordando com o presente estudo, não teve seus níveis alterados (Kawanishi et al., 2012). No músculo esquelético, não foi observado alterações nos níveis das citocinas inflamatórias avaliadas no presente estudo, condizente, Ferrier et al. (2004) também não observou alteração de TNF $\alpha$  no vasto lateral de humanos obesos que realizaram exercício por oito semanas (Ferrier et al., 2004).

O tecido adiposo é uma importante fonte de produção de citocinas relacionadas com o desenvolvimento de doenças crônicas, como obesidade, DM2 e aterosclerose; e o exercício físico tem sido proposto como terapia para reduzir tal inflamação crônica presente no indivíduo obeso (Gomez-Merino et al., 2007). Speretta et al. (2012) avaliaram a expressão gênica no tecido adiposo de ratos submetidos a treinamento resistido alimentados com DP ou DH, e observaram uma redução significativa nos níveis TNF $\alpha$  (Speretta et al., 2012), corroborando com os resultados do presente estudo.

O aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias resulta em complicações metabólicas induzidas pela obesidade. Estudos realizados em roedores e humanos demonstraram que na obesidade ocorre superexpressão do TNF $\alpha$  (Hotamisligil et al., 1993; Tateya et al., 2013). Nos adipócitos, assim como em outras células, TNF $\alpha$  induz a expressão de várias citocinas inflamatórias, como a IL-1 $\beta$ , interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8). O TNF $\alpha$  também está envolvido na redução da adiponectina, hormônio proteico importante na modulação de vários processos metabólicos, incluindo a regulação da glicemia (Peeraully et al., 2004). Devido a isso, a diminuição nos níveis da citocina TNF $\alpha$  é importante para possível redução da glicose sanguínea. Uma vez que estudos têm apontado ligação entre vias pró-inflamatórias e vias que regulam o metabolismo, em especial, aquelas ativadas em resposta à insulina. Diversos mecanismos estão envolvidos nesta ação do TNF $\alpha$  de promover resistência à insulina, tais como: aumento da liberação de ácidos graxos pelos adipócitos; inibição da síntese e secreção de adiponectina; e ainda, aumento da fosforilação em serina de moléculas importantes da via da insulina, levando a menor captação de glicose e aumento da gliconeogênese (Barbeau et al., 2002).

Tem sido bem estabelecido que as anormalidades do metabolismo lipídico estão intimamente associadas a diminuição na sensibilidade à insulina. O aumento da gordura visceral é um fator de risco importante

para o desenvolvimento de resistência à insulina (Lê et al., 2011; Fatani et al., 2012). O acúmulo de gordura visceral também leva a um aumento na liberação de ácidos graxos livres e na síntese de triglicerídeos no fígado, resultando em distúrbios do metabolismo lipídico e glicídico (Tomkin, 2008; Lê et al., 2011; Yu et al., 2016). Além disso, a elevação de ácidos graxos livres no indivíduo obeso, leva a um aumento na concentração intramuscular de alguns metabólitos (como Acil-coenzima A, diacilglicerol e ceramidas) que diminuem a utilização de glicose muscular através da ativação da proteína quinase C (PKC) e suprime a atividade da via de sinalização do receptor de insulina, conduzindo à resistência à insulina (Cahová et al., 2007; Fatani et al., 2012). Há décadas o exercício físico vem sendo defendido como uma ferramenta não farmacológica para o aumento da sensibilidade corporal total à insulina. No presente estudo, todos os protocolos de exercício utilizados foram eficientes em reduzir a gordura corporal, bem como reduzir a glicemia de jejum (comparado ao grupo obeso não exercitado). Diante disso, foi investigado se os treinamentos alterariam a fosforilação da Akt, importante molécula da via de sinalização da insulina.

O exercício físico potencializa o efeito da insulina na fosforilação do IRS-1/2 com consequente aumento da atividade da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) (Howlett et al., 2002). A PI3K está envolvida em maior fosforilação da Akt, proteína crucial para efetivar os efeitos fisiológicos finais da insulina (Wojtaszewski et al., 1999). Pesquisas avaliando o exercício resistido também observaram aumento na fosforilação da Akt (Dreyer et al., 2008; Li et al., 2015). No presente estudo, pode-se observar um aumento significativo na fosforilação da Akt no fígado e tecido adiposo, resultado obtido por qualquer um dos protocolos de exercício, independentemente do tipo de dieta consumida (DP ou DH) quando comparado com os grupos não exercitados. Contrariamente a estudos pregressos (Sakamoto et al., 2003; Deshmukh et al., 2006), não foi observado diferença estatística na fosforilação de Akt no músculo esquelético; além disso, nenhum dos diferentes protocolos de treinamento e nem a indução da obesidade foram eficazes em alterar significativamente a fosforilação da Akt. Podemos considerar que os três protocolos de treinamento demonstraram ser capazes de melhorar o metabolismo glicídico, tanto por reduzir a glicose sanguínea em camundongos obesos, quanto por aumentar a fosforilação da proteína Akt, no fígado e tecido adiposo, não interferindo no músculo esquelético.

## 6 CONCLUSÃO

Observados em conjunto os resultados do presente estudo, estes sugerem que os treinamentos de hipertrofia e força foram eficientes em reduzir o índice de adiposidade, e consequentemente reduzir os níveis proteicos (no tecido adiposo) do TNF $\alpha$ , importante citocina pró-inflamatória. Porém, os três protocolos de treinamento realizados foram capazes de melhorar o metabolismo glicídico, tanto por reduzir a glicose sanguínea em camundongos obesos, quanto por aumentar a fosforilação da proteína Akt, resultado este observado no fígado e tecido adiposo, mas não visto no músculo esquelético, tecido com função importante na indução da resistência à insulina.

Os resultados demonstram que tanto os treinamentos de resistência muscular, como o de força e de hipertrofia, podem ser eficazes no controle da obesidade e da sinalização da insulina nos tecidos hepático e adiposo, de maneira similar aos bem conhecidos exercícios aeróbios de endurance. Por fim, os achados são interessantes se partirmos do pressuposto que o efeito benéfico dos exercícios parece ser devido ao seu papel anti-inflamatório. Dessa forma, o presente estudo apontou os benefícios do exercício físico de hipertrofia e força na redução da adiposidade e na melhora do seu efeito anti-inflamatório o que sugere diminuir as possíveis complicações metabólicas decorrentes da obesidade e de suas consequências.

## REFERÊNCIAS

- Abd El- Kader SM. Aerobic versus resistance exercise training in modulation of insulin resistance, adipocytokines and inflammatory cytokine levels in obese type 2 diabetic patients. 2011; 2:179-183.
- Abel, E. Dale, et al. "Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver." *Nature* 409.6821 (2001): 729-733.
- Abeso. Diretrizes brasileiras de obesidade: associação brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica. 3ª ed. Itapevi: AC Farmacêutica; 2009.
- Alessi DR, Andjelkovic M, Caudwell B, Cron P, Morrice N, Cohen P, Hemmings BA. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *EMBO J.* 1996; 15(23):6541-51.
- Arciero PJ, Gentile CL, Martin-Pressman R, Ormsbee MJ, Everett M, Zwicky L, Steele CA. Increased dietary protein and combined high intensity aerobic and resistance exercise improves body fat distribution and cardiovascular risk factors. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006; 16:373-92.
- Arkan, Melek C., et al. "IKK- $\beta$  links inflammation to obesity-induced insulin resistance." *Nature medicine* 11.2 (2005): 191-198.
- Backer SA, Kellermann J, Lottspeich F. A phosphoproteomic study of insulin signaling pathway using a novel high-throughput pipeline. *EMBO J.* 1992; 11(9):3469-79.
- Bahia L, Araújo DV. Impacto econômico da obesidade no Brasil. *Rev HUPE.* 2014; 13(1):13-17.
- Barbeau P, Litaker MS, Woods KF, Lemmon CR, Humphries MC, Owens S, Gutin B. Hemostatic and inflammatory markers in obese youths: effects of exercise and adiposity. *J Pediatr.* 2002; 141(3):415-20.
- Barthel A, Schmolli D, Unterman TG. Foxo proteins in insulin action and metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2005; 16(4):183-9.
- Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006; 17(1):4-12.
- Bean A. Guia completo de treinamento de força. São Paulo: Manole; 1999.
- Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clin Chim Acta.* 2010; 411(11-12):785-93.



- Bloomer RJ. The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise-induced skeletal muscle injury. *Sports Med.* 2007; 37:519-32.
- Boden G, Duan X, Homko C, Molina EJ, Song W, Perez O, Cheung P, Merali S. Increase in endoplasmic reticulum stress-related proteins and genes in adipose tissue of obese, insulin-resistant individuals. *Diabetes.* 2008; 57(9):2438-44.
- Boden, G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011; 18(2):139-143. 2011.
- Bouret SG, Simerly RB. Minireview: leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinol* 2004; 145(6):2621-6.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72(1):248-54.
- Bradley RL, Jeon JY, Liu FF, Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 295(3):E586-94.
- Bruss MD, Arias EB, Lienhard GE, Cartee GD. Increased phosphorylation of Akt substrate of 160 kDa (AS160) in rat skeletal muscle in response to insulin or contractile activity. *Diabetes.* 2005; 54(1):41-50.
- Bruunsgaard H, Pedersen BK. Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2003; 23(1):15-39.
- Butler, Alexandra E., et al. "β-cell deficit and increased β-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes." *Diabetes* 52.1 (2003): 102-110.
- Cai, Dongsheng, et al. "Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-β and NF-κB." *Nature medicine* 11.2 (2005): 183-190.
- Cahová M, Vavřínková H, Kazdová L. Glucose-fatty acid interaction in skeletal muscle and adipose tissue in insulin resistance. *Physiol Res.* 2007;56(1):1-15.
- Calle MC, Fernandez ML, Kraemer WJ, Volk BM, Kupchak B, Volek JS. Resistance training improves the inflammatory response to an acute resistance exercise bout in healthy young adults. *FASEB J.* 2010; 24:743-2.
- Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, Zhang Z, Zhao G, Liu H, Zhang H. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. *Plos One* 2012;7(12):01-13.

- Carretero JIB, Barbancho L, Gonzalez MAV, Dacosta CV. Leptina: implicaciones fisiológicas y clínicas. *An Med Interna*. 2001; 18(3):152-60.
- Chan JL, Bluher S, Yiannakouris N, Suchard MA, Kratzch J, Mantzoros CS. Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids and leptin. *Diabetes*. 2002; 51(7):2105-12.
- Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. *Pituitary*. 2001; 4(1-2):87-92.
- Chavez, Jose A., and Scott A. Summers. "A ceramide-centric view of insulin resistance." *Cell metabolism* 15.5 (2012): 585-594.
- Chodzko-Zajko WJ, Proctor DN, Fiatarone Singh MA, Minson CT, Nigg CR, Salem GJ, Skinner JS. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009; 41(7):1510-30.
- Church TS, Blair SN, Cocroham S, Johannsen N, Johnson W, Kramer K, Mikus CR, Myers V, Nauta M, Rodarte RQ, Sparks L, Thompson A, Earnest CP. Effects of aerobic and resistance training on hemoglobin A1c levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2010; 304(20):2253-62.
- Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, Chasan-Taber L, Albright AL, Braun B, American College of Sports Medicine, American Diabetes Association. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care*. 2010; 33(12):2692-6.
- Da Luz G, Frederico MJ, da Silva S, Vitto MF, Cesconetto PA, de Pinho RA, Pauli JR, Silva AS, Cintra DE, Ropelle ER, De Souza CT. Endurance exercise training ameliorates insulin resistance and reticulum stress in adipose and hepatic tissue in obese rats. *Eur J Appl Physiol*. 2011; 111(9):2015-23.
- Da Silva AS, Pauli JR, Ropelle ER, Oliveira AG, Cintra DE, De Souza CT, Velloso LA, Carvalheira JB, Saad MJ. Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. *Med Sci Sports Exerc*. 2010; 42(12): 2180-2188.
- Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends immunol*. 2004; 25(1):4-7.
- De Alvaro C, Teruel T, Hernandez R, Lorenzo M. Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of

- inhibitor kappaB kinase in a p38 MAPKdependent manner. *J Biol Chem.* 2004; 279(17):17070-8.
- De Moura LP, Souza Pauli LS, Cintra DE, de Souza CT, da Silva AS, Marinho R, de Melo MA, Ropelle ER, Pauli JR. Acute exercise decreases PTP-1B protein level and improves insulin signaling in the liver of old rats. *Immun Ageing.* 2013; 10(1): 8.
- De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, Saad MJ, Velloso LA. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinol.* 2005; 146(10):4192-9.
- Deshmukh A, Coffey VG, Zhong Z, Chibalin AV, Hawley JA, Zierath JR. Exercise-induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS160 and filamin A in human skeletal muscle. *Diabetes.* 2006; 55(6):1776-82.
- Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK, American College of Sports Medicine. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. 2009; 41(2):459-71.
- Drenowatz C, Hand GA, Sagner M, Shook RP, Burgess S, Blair SN. The Prospective Association between Different Types of Exercise and Body Composition. *Med Sci Sports Exerc.* 2015; 47(12):2535-41.
- Dreyer HC, Drummond MJ, Glynn EL, Fujita S, Chinkes DL, Volpi E, Rasmussen BB. Resistance exercise increases human skeletal muscle AS160/TBC1D4 phosphorylation in association with enhanced leg glucose uptake during postexercise recovery. *J Appl Physiol* (1985). 2008; 105(6):1967-74.
- Duncan, Greg J., et al. "School readiness and later achievement." *Developmental psychology* 43.6 (2007): 1428.
- Dunstan DW, Daly RM, Owen N, Jolley D, De Courten M, Shaw J, Zimmet P. Highintensity resistance training improves glycemiccontrol in older patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25(10):1729-36.
- Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, Normandin D, Cheng A, Himms-Hagen J, Chan CC, Ramachandran C, Gresser MJ, Tremblay ML, Kennedy BP. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science.* 1999; 283(5407):1544-8.
- Egan B & Zierath JR (2013) Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*17, 162–184.Dimitriadis et al., 2011.

- Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. 2004; 20(2): 218-24.
- Evans WJ. Protein nutrition and resistance exercise. *Can J Appl Physiol*. 2001; 26(6Suppl):S141-52.
- Fallon KE, Fallon SK, Boston T. The acute phase response and exercise: court and field sports. *Br J Sports Med*. 2001; 35(3):170-3.
- Fatani S, Abubakari AR, Itua I, Wong C, Thomas C, Naderali EK. Effects of diet-induced obesity on protein expression in insulin signaling pathways of skeletal muscle in male Wistar rats. *Int J Gen Med*. 2012; 5:573-82.
- Ferrier KE, Nestel P, Taylor A, Drew BG, Kingwell BA. Diet but not aerobic exercise training reduces skeletal muscle TNF-alpha in overweight humans. *Diabetologia*. 2004; 47(4):630-7.
- Foster LJ, Klip A. Mechanism and regulation of GLUT-4 vesicle fusion in muscle and fat cells. *Am J Cell Physiol*. 2000; 279(4):C877-90.
- Ford, Earl S., David F. Williamson, and Simin Liu. "Weight change and diabetes incidence: findings from a national cohort of US adults." *American journal of epidemiology* 146.3 (1997): 214-222.
- Francischi RP, Pereira LO, Lancha Jr AH. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. *Rev Paul Educ Fís* 2001; 15:117-40.
- Friedman JM. Obesity in the new millennium. *Nature*. 2000; 404(6778):632-4.
- Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*. 2007; 56(8): 2093-102.
- Gomez-Merino D, Drogou C, Guezennec CY, Chennaoui M. Effects of chronic exercise on cytokine production in white adipose tissue and skeletal muscle of rats. *Cytokine*. 2007; 40(1):23-9.
- Gonçalves IO, Passos E, Rocha-Rodrigues S, Torrella JR, Rizo D, Santos-Alves E, Portincasa P, Martins MJ, Ascensão A, Magalhães J. Physical exercise antagonizes clinical and anatomical features characterizing Lieber-DeCarli diet-induced obesity and related metabolic disorders. *Clin Nutr*. 2015; 34(2):241-7.
- Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med*. 1998; 49:235-61.
- Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. *FASEB J*. 2002; 15(2):475-82.

- Guedes DP, Guedes JE, Barbosa DS, de Oliveira JA, Stanganelli LC. Fatores de risco cardiovasculares em adolescentes: Indicadores biológicos e comportamentais. *Arq Bras Cardiol.* 2006; 86(6):439-50.
- Guedes, Dartagnan Pinto, et al. "Impacto de fatores sociodemográficos e comportamentais na prevalência de sobrepeso e obesidade de escolares." *Rev. bras. cineantropom. desempenho hum* 12.4 (2010).
- Hagiwara, Asami, et al. "Hepatic mTORC2 activates glycolysis and lipogenesis through Akt, glucokinase, and SREBP1c." *Cell metabolism* 15.5 (2012): 725-738.
- Hay N. Interplay between FOXO, TOR, and Akt. *Biochim Biophys Acta.* 2011; 1813(11):1965-70.
- Hayashi T, Wojtaszewski JF, Goodyear LJ. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1997; 273(6 Pt 1):E1039-51.
- Hegyí K, Fulop K, Kovacs K, Toth S, Falus A. Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell Biol Int.* 2004; 28(3):159-69.
- Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 2002; 420(6913): 333-6.
- Holland WL, Bikman BT, Wang LP, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, Knotts TA, Shui G, Clegg DJ, Wenk MR, Pagliassotti MJ, Scherer PE, Summers SA. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1858-70.
- Hornberger Jr TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol.* 2004; 29(1):16-31.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259(5091):87-91.
- Hotamisligil GS. Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. *Int J Obesity (Lond).* 2008; 32(Suppl 7):S52-4.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444(7121):860-7.
- Howlett KF, Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WG, Dow M, White MF, Goodyear LJ. Insulin Signaling After Exercise in Insulin Receptor Substrate-2-Deficient Mice. *Diabetes.* 2002; 51(2): 479 – 483.
- Hulver MW, Houward JA. Plasma leptin and exercise. *Sports Med.* 2003; 33(7):473-82.

Hunter GR, Fisher G, Neumeier WH, Carter SJ, Plaisance EP. Exercise training and energy expenditure following weight loss. *Med Sci Sports Exerc.* 2015; 47(9):1950-57.

Hussey SE, McGee SL, Garnham A, McConell GK, Hargreaves M. Exercise increases skeletal muscle GLUT4 gene expression in patients with type 2 diabetes. *Diab Obes Metabol.* 2012; 1(4):24-40.

Ibañes J, Izquierdo M, Argüelles I, Forga L, Larrión JL, García-Unciti M, Idoate F, Gorostiaga EM. Twice-weekly progressive resistance training decreases abdominal fat and improves insulin sensitivity in older men with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28(3):662-7.

Instituto Brasileiro de Geografia (Brasil). Diretoria de Pesquisas. Coordenação de Trabalho e Rendimento. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009; 2010.

Ismail I, Keating SE, Baker MK, Johnson NA. A systematic review and meta-analysis of the effect of aerobic vs. resistance exercise training on visceral fat. *Obes Rev.* 2012; 13(1):68-91.

Il'yasova, Dora, et al. "Urinary biomarkers of oxidative status in a clinical model of oxidative assault." *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 19.6 (2010): 1506-1510.

Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, Srinivasan SR, Daniels SR, Davis PH, Chen W, Sun C, Cheung M, Viikari JS, Dwyer T, Raitakari OT. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. *N Engl J Med.* 2011; 365(20):1876-85.

Kawanishi N, Yano H, Mizokami T, Takahashi M, Oyanagi E, Suzuki K. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice. *Brain Behav Immun.* 2012; 26(6):931-41.

Kashyap, Sonya, George A. Wells, and Zev Rosenwaks. "Insulin-sensitizing agents as primary therapy for patients with polycystic ovarian syndrome." *Human Reproduction* 19.11 (2004): 2474-2483.

Kimura M, Tatushi, N, Shiota T, Yashie F, Yamaushi H, Suzuki M, et al. Long-term exercise down regulates leptin receptor mRNA in the arcuate nucleus. *Neuro report.* 2004; 15(4):713-6.

Kinugawa T, Kato M, Ogino K, Osaki S, Tomikura Y, Igawa O, Hisatome I, Shigemasa C. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels increase in response to maximal exercise in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2003; 87(1):83-90.

Kirk EP, Donnelly JE, Smith BK, Honas J, Lecheminant JD, Bailey BW, Jacobsen DJ, Washburn RA. Minimal resistance training improves

- daily energy expenditure and fat oxidation. *Med Sci Sports Exerc.* 2009; 41(5):1122-9.
- Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000; 404(6778):635-43.
- Kops GJ, de Ruiter ND, De Vries-Smits AM, Powell DR, Bos JL, Burgering BM. Direct control of the Forkhead transcription factor AFX by protein kinase B. *Nature.* 1999; 398(6728):630-4.
- Koves, Timothy R., et al. "Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance." *Cell metabolism* 7.1 (2008): 45-56
- Khunti, Kamlesh, et al. "Quality of diabetes care in the UK: comparison of published quality-of-care reports with results of the Quality and Outcomes Framework for Diabetes." *Diabetic medicine* 24.12 (2007): 1436-1441.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680-5.
- Lambernd S, Taube A, Schober A, Platzbecker B, Görgens SW, Schlich R, Jeruschke K, Weiss J, Eckardt K, Eckel J. Contractile activity of human skeletal muscle cells prevents insulin resistance by inhibiting pro-inflammatory signalling pathways. *Diabetologia.* 2011; 55(4):1128-39.
- Lê KA, Mahurkar S, Alderete TL, Hasson RE, Adam TC, Kim JS, Beale E, Xie C, Greenberg AS, Allayee H, Goran MI. Subcutaneous adipose tissue macrophage infiltration is associated with hepatic and visceral fat deposition, hyperinsulinemia, and stimulation of NF- $\kappa$ B stress pathway. *Diabetes.* 2011; 60(11):2802-9.
- Leite RD, Durigan Rde C, de Souza Lino AD, de Souza Campos MV, Souza Md, Selistre-de-Araújo HS, Bouskela E, Kraemer-Aguiar LG. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metabolism.* 2013; 62(10):1477-84.
- Leto, D., & Saltiel, A. R. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2012; 13(6), 383-396.
- Li, Bing, Michael Carey, and Jerry L. Workman. "The role of chromatin during ranscription." *Cell* 128.4 (2007): 707-719.
- Li M, Li W, Yoon JH, Jeon BH, Lee SK. Resistance exercise training increase activation of AKT-eNOS and Ref-1 expression by FOXO-1 activation in aorta of F344 rats. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2015; 19(3):165-71.

- Liu Z, Patil IY, Jiang T, Sancheti H, Walsh JP, Stiles BL, Yin F, Cadenas E. High-fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity. *PLoS One*. 2015; 10(5):e0128274.
- Lu, Riyu, Buwen Dong, and Hui Ding. "Impact of the Atlantic Multidecadal Oscillation on the Asian summer monsoon." *Geophysical Research Letters* 33.24 (2006).
- Luciano E, Carneiro EM, Carvalho CR, Carvalheira JB, Peres SB, Reis MA, Saad MJ, Boschero AC, Velloso LA. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt-1 pathway. *Eur J Endocrinol*. 2002; 147(1):149-57.
- Magnusson, R., and S. S. Wang. "New principle for optical filters." *Applied physics letters* 61.9 (1992): 1022-1024.
- McArdle, Maeve A., et al. "Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies." *Frontiers in endocrinology* 4 (2013): 52.
- Mardare C, Krüger K, Liebisch G, Seimetz M, Couturier A, Ringseis R, Wilhelm J, Weissmann N, Eder K, Mooren FC. Endurance and Resistance Training Affect High Fat Diet-Induced Increase of Ceramides, Inflammasome Expression, and Systemic Inflammation in Mice. *J Diabetes Research*, 2016; 2016:1-13.
- Marinho R, Moura LP, Rodrigues BA, Pauli LSS, Silva ASR, Ropelle ECC, Souza CT, Cintra DEC, Ropelle ER, Pauli JR. Efeitos de diferentes intensidades de exercício físico sobre a sensibilidade à insulina e atividade da proteína quinase B/Akt no músculo esquelético de camundongos obesos. *Einstein* 2014; 12(1):82-89.
- McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth (PDAY)
- M.D. Michael, R.N. Kulkarni, C. Postic, S.F. Previs, G.I. Shulman, M.A. Magnuson, C.R. Kahn *Mol. Cell*, 6 (2000), pp. 87–97
- Mokdad, Ali H., et al. "Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001." *Jama* 289.1 (2003): 76-79.
- Morton, G.J.; Cummings, D.E.; Baskin, D.G.; Barsh, G.S.; Schwartz, M.W. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, v.443, p. 289–295, 2006.
- Morris, Garrett M., et al. "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility." *Journal of computational chemistry* 30.16 (2009): 2785-2791. Research Group. Obesity accelerates



- the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002; 105(23):2712-8.
- Mekary RA, Grøntved A, Despres JP, De Moura LP, Asgarzadeh M, Willett WC, Rimm EB, Giovannucci E, Hu FB. Weight training, aerobic physical activities, and long-term waist circumference change in men. *Obesity*. 2015; 23(2):461-7.
- Misra A, Alappan NK, Vikram NK, Goel K, Gupta N, Mittal K, Bhatt S, Luthra K. Effect of supervised progressive resistance-exercisetraing protocol on insulin sensitivity, glycemia, lipids, and body composition in asian indians with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2008; 31(7):1282-7.
- Mondon CE, Dolkas CB, Reaven GM. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise-trained rats at rest. *Am J Physiol*. 1980; 239(3):E169-77.
- Moschos S, Chan JL, Mantzoros MD. Leptin and reproduction: a review. *Fertility and Sterility*. 2002; 77(3):433-44.
- Muoio, Deborah M. "Metabolic inflexibility: when mitochondrial indecision leads to metabolic gridlock." *Cell* 159.6 (2014): 1253-1262.
- Nassis GP, Papantakou K, Skenderi K, Triandafillopoulou M, Kavouras SA, Yannakoulia M, Chrousos GP, Sidossis LS. Aerobic exercise training improves insulin sensitivity without changes in body weight, body fat, adiponectin, and inflammatory markers in overweight and obese girls. *Metabolism Clin Experimen*. 2005; 54(11): 1472-9.
- Nguyen DM, El-Serag HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010; 39(1):1-7.
- Oh S, Tanaka K, Warabi E, Shoda J. Exercise reduces inflammation and oxidative stress in obesity-related liver diseases. *Med Sci Sports Exerc*. 2013; 45(12):2214-22.
- Osborn, Olivia, and Jerrold M. Olefsky. "The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease." *Nature medicine* 18.3 (2012): 363-374.
- Olson AL, Pessin JE. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annu Rev Nutr*. 1996; 16:235-56.
- Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdellen E, Tuncman G, Gorgun C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 2004; 306(5695):457-61.
- Pal, Moumita, and M. Ghosh. "Prophylactic effect of  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -eleostearic acid against MeHg induced oxidative stress, DNA

damage and structural changes in RBC membrane." *Food and chemical toxicology* 50.8 (2012): 2811-2818.

Pappachan JM, Chacko EC, Arunagirinathan G, Sriraman R.

Management of hypertension and diabetes in obesity: non-pharmacological measures. *Int J Hypertens.* 2011; 2011:398065.

Park SK, Park JH, Kwon YC, Kim HS, Yoon MS, Park HT. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on abdominal fat in obese middle-aged women. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci.* 2003; 22:129–35.

Pauli JR, Cintra DE, De Souza CT, Ropelle ER. Novos mecanismos pelos quais exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53(4).

Pauli JR, Ropelle ER, Cintra DE, Carvalho-Filho MA, Moraes JC, De Souza CT, Velloso LA, Carvalheira JB, Saad MJ. Acute physical exercise reverses S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt in dietary induce obese Wistar rats. *J Physiol.* 2008; 586(2):659-71.

Peeraully MR, Jenkins JR, Trayhurn P. NGF gene expression and secretion in white adipose tissue: regulation in 3T3-L1 adipocytes by hormones and inflammatory cytokines. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287(2):331-9.

Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH, American Heart Association, Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation.* 2006; 113(6):898-918.

Popkin BM, Doak CM. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutr Rev.* 1998; 56(4 Pt 1):106-14.

Racette SB, Deusinger SS, Deusinger RH.

Obesity: overview of prevalence, etiology, and treatment. *Phys Ther.* 2003; 83(3):276-88.

Rajala, Michael W., and Philipp E. Scherer. "Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis." *Endocrinology* 144.9 (2003): 3765-3773.

Ren, Wei, and Randal W. Beard. "Consensus seeking in multiagent systems under dynamically changing interaction topologies." *IEEE Transactions on automatic control* 50.5 (2005): 655-661.

- Ren, Yong-Xiang, et al. "Effects of bacterial activity on estrogen removal in nitrifying activated sludge." *Water Research* 41.14 (2007): 3089-3096.
- Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8(7):519-29.
- Ropelle ER, Pauli JR, Prada PO, de Souza CT, Picardi PK, Faria MC, Cintra DE, Fernandes MF, Flores MB, Velloso LA, Saad MJ, Carvalheira JB. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. *J Physiol.* 2006; 577(Pt 3):997-1007.
- Ropelle ER. Efeitos do exercício físico na obesidade e diabetes. In: Cintra DE, Ropelle ER, Pauli JR (editores). *Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular.* São Paulo: Sarvier; 2011. p. 237-56.
- Rui L, Yuan M, Frantz D, Shoelson S, White MF (2002) SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 277:42394–42398
- Sabio, Guadalupe, et al. "A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance." *Science* 322.5907 (2008): 1539-1543.
- Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002; 16(4):623-37.
- Sakamoto K, Aschenbach WG, Hirshman MF, Goodyear LJ. Akt signaling in skeletal muscle: regulation by exercise and passive stretch. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003; 285(5):E1081-8.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001; 414(6865):799-806.
- Samaan MC, Marcinko K, Sikkema S, Fullerton MD, Ziafazeli T, Khan MI, Steinberg GR. Endurance interval training in obese mice reduces muscle inflammation and macrophage content independently of weight loss. *Physiol Rep.* 2014 May 19;2(5).
- Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science.* 2005; 307(5712):1098-101.
- Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, Latini A, Pinho RA. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012; 37(6):1239-46.
- Schenk S, Horowitz JF. Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* 2007; 117(6):1690-8.

- Schmitz KH, Jensen MD, Kugler KC, Jeffery RW, Leon AS. Strength training for obesity prevention in midlife women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27(3):326-33.
- Seyer, Pascal, et al. "Hepatic glucose sensing is required to preserve  $\beta$  cell glucose competence." *The Journal of clinical investigation* 123.4 (2013): 1662-1676.
- Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein expression. in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34(10):1353-62.
- Sertié RAL, Paulino EC, Brum PC, Andreotti S, Lima FB, Negrão CE. Exercise training and caloric restriction reduce adiposity index and hepatic lipids in obese rats. *Immunoendocrinology*. 2015; 2:e1053.
- Shaibi GQ, Cruz ML, Ballg DC, Weigensberg MJ, Salem GJ, Crespo NC, Goran MI. Effects of resistance training on insulin sensitivity in overweight Latino adolescent males. *Med Sci Sports Exerc*. 2006; 38(7):1208-15.
- Shen Y, Xu X, Yue K, Xu G. Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obesity*. 2015; 23(5):1000-06.
- Shi, Hang, et al. "TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance." *The Journal of clinical investigation* 116.11 (2006): 3015-3025.
- Shulman, GI, et al. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 1990. **322**:223-228.
- Slentz CA, Bateman LA, Willis LH, Shields AT, Tanner CJ, Piner LW, Hawk VH, Muehlbauer MJ, Samsa GP, Nelson RC, Huffman KM, Bales CW, Houmard JA, Kraus WE. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011; 301(5):E1033-9.
- Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP). Departamento de Nutrologia. *Obesidade na infância e adolescência: manual de orientação*. Rio de Janeiro, 2008.
- Souza CT, Pauli JR. Exercício físico resistido e diabetes. In: Ropelle ER, Pauli JR (editores). *Paciente diabético: cuidados em educação física e esporte*. Rio de Janeiro: MedBook; 2013.
- Souza MVC, Leite RD, Li no ADS, Marqueti RC, Bernardes CF, Araújo HSS, Bouskela E, Shiguemoto GE, Perez SEA, Kraemer-Aguiar LG. Resistance training improves body composition and increases matrix

- metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. *Clinics*. 2014; 69(4):265-70.
- Spiegelman B, Flier J. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell Press*. 2001; 104(4):533-43.
- Spruss, Astrid, et al. "Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice." *Hepatology* 50.4 (2009): 1094-1104.
- Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio MA, Pedersen BK. IL-6 and TNF- $\alpha$  expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 283(6):E1272-8.
- Stein C, Colditz G. The epidemic of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6):2522-5.
- Stockhorst U, De Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA. Insulin and the CNS: Effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol Behav*. 2004; 83(1):47-54.
- Strasser B, Schobersberger W. Evidence for resistance training as a treatment therapy in obesity. *J Obes*. 2011; 2011:1-9.
- Strasser B. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2013; 1281(1):141-59.
- Taniguchi, Cullen M., Brice Emanuelli, and C. Ronald Kahn. "Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action." *Nature reviews Molecular cell biology* 7.2 (2006): 85-96.
- Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol*. 2013;4:1-14.
- Teran-Garcia M, Rankinen T, Koza RA, Rao DC, Bouchard C. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005; 288(6):E1168-78.
- Thirone, Ana CP, Carol Huang, and Amira Klip. "Tissue-specific roles of IRS proteins in insulin signaling and glucose transport." *Trends in Endocrinology & Metabolism* 17.2 (2006): 72-78.
- Tokmakidis SP, Zois CE, Volaklis KA, Kotsa K, Touvra AM. The effects of a combined strength and aerobic exercise program on glucose control and insulin action in women with type 2 diabetes. *Eur J Appl Physiol*. 2004; 92(4-5):437-2.
- Tomkin GH. Targets for intervention in dyslipidemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2008; 31 Suppl 2:S241-8.
- Tsukumo DM, Carvalho-Filho MA, Carvalheira JB, Prada PO, Hirabara SM, Schenka AA. Loss-of-function mutation in toll-like receptor 4

- prevents diet-induced and insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56(8):1986-8.
- Tuncman G, Hirosumi J, Solinas G, Chang L, Karin M, Hotamisligil S. Functional in vivo interactions between JNK1 and JNK2 isoforms in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(28):10741-6.
- Urbonavičius, Jaunius, Rolandas Meškys, and Henri Grosjean. "Biosynthesis of wyosine derivatives in tRNAPhe of Archaea: role of a remarkable bifunctional tRNAPhe: m1G/imG2 methyltransferase." *Rna* 20.6 (2014): 747-753.
- Valerio A, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Pisconti A, et al. TNF-alpha downregulates iNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents. *J Clin Invest*. 2006; 116(10):2791-8.
- Van Kralingen C, Kho DT, Costa J, Angel CE, Graham ES. Exposure to inflammatory cytokines IL-1beta and TNF alpha induces compromise and death of astrocytes; implications for chronic neuroinflammation. *PLoS One*. 2013; 8:e84269.
- Venables MC, Jeukendrup AE. Endurance training and obesity: effect on substrate metabolism and insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc*. 2008; 40(3):495-502.
- Villanueva EC, Myers MG Jr. Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. *Int J Obes (Lond)*. 2008; 32(Suppl 7):S8-S12.
- Wan, Min, et al. "Postprandial hepatic lipid metabolism requires signaling through Akt2 independent of the transcription factors FoxA2, FoxO1, and SREBP1c." *Cell metabolism* 14.4 (2011): 516-527.
- Wang Y. Research progress of relations between exercise training and obese chronic inflammatory. *J Chem Pharm Res*. 2013; 5(12):829-832.
- Wahren, J., K. Ekberg, and H. Jörnvall. "C-peptide is a bioactive peptide." *Diabetologia* 50.3 (2007): 503-509.
- White, Morris F. "IRS proteins and the common path to diabetes." *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* 283.3 (2002): E413-E422.
- Williams LM, Campbell FM, Drew JE, Koch C, Hoggard N, Rees WD, Kamolrat T, Thi Ngo H, Steffensen IL, Gray SR, Tups A. The development of diet-induced obesity and glucose intolerance in C57BL/6 mice on a high-fat diet consists of distinct phases. *PLoS One*. 2014; 9(8):e106159.
- Wild, Sarah, et al. "Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030." *Diabetes care* 27.5 (2004): 1047-1053.

- Willis LH, Slentz CA, Bateman LA, Shields AT, Piner LW, Bales CW, Houmard JA, Kraus WE. Effects of aerobic and/or resistance training on body mass and fat mass in overweight or obese adults. *J Appl Physiol*. 2012; 113(12):1831-7.
- Wilmore JH, Costill DL. *Fisiologia do esporte e do exercício*. 2 ed. Barueri: manole, 2001.
- Wojtaszewski JF, Higaki Y, Hirshman MF, Michael MD, Dufresne SD, Kahn CR, Goodyear LJ. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *J Clin Invest*. 1999; 104(9):1257-1264.
- World Health Organization (WHO). *Obesity: preventing and managing the global epidemic: report a WHO Consultation on Obesity*. WHO Technical Report Series n° 894. Geneva, Switzerland: WHO, 2000.
- Xu, Haiyan, et al. "Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance." *The Journal of clinical investigation* 112.12 (2003): 1821-1830.
- Yamauchi, Toshimasa, et al. "Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase." *Nature medicine* 8.11 (2002): 1288-1295.
- Yang G, Lim CY, Li C, Xiao X, Radda GK, Cao X, Han W. FoxO1 inhibits leptin regulation of proopiomelanocortin promoter activity by blocking STAT3 interaction with specificity protein 1. *J Biol Chem*. 2009; 284(6):3719-27.
- Yaspelkis BB, Kvasha I, Lessard S, Rivas D, Hawley J. Aerobic training reverses high-fat diet-induced pro-inflammatory signalling in rat skeletal muscle. *Eur J App Physiol*. 2010; 110(4):779-88.
- Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64(7-8):873-91.
- Yu J, Zheng J, Liu XF, Feng ZL, Zhang XP, Cao LL, Zhou ZP. Exercise improved lipid metabolism and insulin sensitivity in rats fed a high-fat diet by regulating glucose transporter 4 (GLUT4) and musclin expression. *Braz J Med Biol Res*. 2016; 49(5):e5129.
- Yu-Ching C, Shin-Da L, Cha-Hua K, Low-Tone H. The effects of altitude training on the AMPK-related glucose transport pathway in the red skeletal muscle of both lean and obese Zucker rats. *High Alt Med Biol*. 2011; 12(4): 371-8.
- Zinker BA, Mohr T, Kelly P, Namdaran K, Bracy DP, Wasserman DH. Exercise-induced fall in insulin: mechanism of action at the liver and effect on muscle glucose metabolism. *Am J Physiol*. 1994; 266(5 Pt 1):E683-9.

Zisman, Ariel, et al. "Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance." *Nature medicine* 6.8 (2000): 924-928.



**ANEXO**



## ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Universidade do Extremo Sul Catarinense

Comissão de Ética no Uso de Animais

### Resolução

A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex e pela Lei Federal 11.794/08, analisou o projeto abaixo.

**Protocolo: 053-2014-1**

**Professor responsável:** Cláudio Teodoro de Souza

**Equipe:** Ricardo Aurino de Pinho, Daniela Roxo de Souza, Schérolin de Oliveira Marques, Thaís Fernandes Luciano, Alessandra Gonçalves Machado, Janesca Mansur Guedes, Ariete Inês Minetto.

**Título:** “Efeito do treinamento resistido progressivo sobre o controle ponderal em camundongos obesos”

Este projeto foi **Aprovado** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA. Foi autorizada a utilização do total de 80 Camundongos heterogênicos Swiss de 60 dias pesando aproximadamente 25 g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail [ceua@unesc.net](mailto:ceua@unesc.net).

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

**Protocol number: 053-2014-01**


**Principal Investigator:** Cláudio Teodoro de Souza

**Researchers:** Ricardo Aurino de Pinho, Daniela Roxo de Souza, Schérolin de Oliveira Marques, Thaís Fernandes Luciano, Alessandra Gonçalves Machado, Janesca Mansur Guedes, Ariete Inês Minetto.

**Project title:** “Effect of three different exercise resistance model on body mass control in obese mice”

The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on [www.unesc.net/propex/ceua](http://www.unesc.net/propex/ceua) or by e-mail: [ceua@unesc.net](mailto:ceua@unesc.net).

Criciúma, 23 de abril de 2014.

  
Patricia Fernanda Schuck  
Coordenadora da CEUA