

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**  
**Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas**

**Juliana Sales Rodrigues Costa**

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIO DE SUBIDA EM ESCADA EM  
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

**DIAMANTINA – MG**  
**2018**

**Juliana Sales Rodrigues Costa**

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIO DE SUBIDA EM ESCADA EM  
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Flávio de Castro Magalhães

**Diamantina – MG  
2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C837e

Costa, Juliana Sales Rodrigues

Efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica / Juliana Sales Rodrigues Costa, 2018.

69 p. : il.

Orientador: Flávio de Castro Magalhães

Dissertação (Mestrado Profissional – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

1. Obesidade. 2. Resistência à insulina. 3. Exercício físico.  
3. Exercício em escada. I. Magalhães, Flávio de Castro. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 616.398**

JULIANA SALES RODRIGUES COSTA

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIO DE SUBIDA EM ESCADA  
EM CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada ao  
MESTRADO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS, nível de MESTRADO  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MAGISTER  
SCIENTIAE EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS

Orientador (a): Prof. Dr. Flávio De  
Castro Magalhães

Data da aprovação : 08/10/2018



Prof.Dr. FLAVIO DE CASTRO MAGALHÃES - UFVJM



Dr.ª CARINA DE SOUSA SANTOS - UFVJM



Prof.Dr. RICARDO CARDOSO CASSILHAS - UFVJM

Dedico este trabalho à minha mãe que para mim sempre será um exemplo de dedicação, trabalho, capricho, força e generosidade.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Júlia, por toda luta e dificuldades enfrentadas para que eu pudesse chegar até aqui.

Às minhas tias, em especial Régia, Rejane, Marinalva, Lindinalva e Maria José que tanto contribuíram para a minha formação pessoal.

Ao meu orientador, prof. Dr. Flávio de Castro Magalhães por me dar a oportunidade de me qualificar, acreditar no meu potencial, compreender meus horários de trabalho e a todos os ensinamentos indispensáveis a esta formação.

À Graciene que desde o início me acompanhou e ajudou em todos os momentos independente do dia, da hora e do prazo de entrega. Sou eternamente grata ao seu empenho, dedicação e amizade.

Aos colegas de pesquisa Gabriela, Maíra, Rômulo, Natiele e Patrick pela dedicação e em não medir esforços para me ajudar a concluir meus experimentos. Sem vocês teria sido muito mais difícil.

À Manuela e ao Paulo pela boa vontade em me ensinar procedimentos indispensáveis aos meus experimentos.

Aos colegas do PMPGCF e Letfis pela boa convivência e cooperação, em especial ao Bruno e ao Caíque pela ajuda durante os treinamentos.

Aos meus colegas de trabalho pelo apoio e companheirismo.

Aos servidores da manutenção elétrica Liceu e Nivaldo por não medirem esforços a nos atender quando preciso.

À UFVJM e ao PMPGCF pela oportunidade de realização deste trabalho.

À FAPEMIG por viabilizar financeiramente este estudo.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão desta etapa de minha vida.

*“A dedicação leva até onde o talento sem esmero jamais chegará.”*

(Ronaldo Rhusso)

## RESUMO

O aumento da prevalência da obesidade em todo o mundo é motivo de grande preocupação devido à forte ligação com outras doenças como doenças cardiovasculares, resistência à insulina e diabetes tipo 2. A obesidade é um dos principais contribuintes para a resistência à insulina e mais de 80% dos indivíduos com diabetes tipo 2 também são obesos e um número substancial desses pacientes expressa anormalidades na sensibilidade à insulina e no metabolismo da glicose. O exercício físico vem sendo utilizado como um importante recurso terapêutico para o tratamento e prevenção de diversas doenças decorrentes do excesso de adiposidade. O exercício de subida em escada para roedores pode ser uma estratégia de intervenção para se estudar seus efeitos sobre o metabolismo da glicose. Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos Balb/c alimentados com dieta hiperlipídica sobre parâmetros associados à obesidade e resistência à insulina. Para isso, 48 animais foram divididos em 2 grupos (n=24) sendo grupo *chow* alimentado com ração comercial (10% das calorias de gordura) e grupo HFD (de *high fat diet*) alimentado com dieta hiperlipídica (42% das calorias de gordura) por 12 semanas. Nas quatro primeiras semanas, todos os animais permaneceram sedentários alimentados com suas respectivas dietas. Na quinta semana todos os animais foram adaptados para a subida em escada e passaram por testes físicos pré-exercício de 3 repetições máximas (3RM) e de resistência. Os grupos foram subdivididos em grupos sedentários e grupos treinados (n=12/grupo). Na sexta semana experimental se deu o início do exercício que durou por 6 semanas, sendo iniciado com 5 séries de 6 subidas e carga de 80% do peso do teste de 3RM, progredindo até atingir 6 séries de 8 subidas e carga correspondente a 110% do 3RM. Os animais dos grupos sedentários não realizaram o exercício físico. Ao final do experimento todos os animais foram submetidos aos testes físicos pós-exercício e testes de tolerância à glicose e à insulina. Em seguida foram eutanasiados e foram coletados tecidos adiposos e musculares, assim como o soro para posteriores análises. A dieta hiperlipídica piorou a tolerância à glicose, aumentou a glicemia de jejum, aumentou o índice de adiposidade, a área dos adipócitos epididimais e a concentração sérica de colesterol total e HDL-colesterol. O exercício de subida em escada aumentou o desempenho nos testes de 3RM e de resistência e aumentou a área dos miócitos do quadríceps e glúteo máximo em ambos os grupos treinados. Para o grupo alimentado com dieta hiperlipídica, o exercício físico melhorou a tolerância à glicose e reduziu a área dos adipócitos epididimais. O protocolo de exercício de subida em



escada utilizado no presente estudo foi eficaz em melhorar alguns parâmetros alterados pela dieta hiperlipídica em camundongos Balb/c.

**Palavras-chave:** obesidade, resistência à insulina, exercício físico, exercício em escada.

## ABSTRACT

The rising prevalence of obesity worldwide is a reason of great concern because of the strong link with other diseases such as cardiovascular disease, insulin resistance and type 2 diabetes. Obesity is a major contributor to insulin resistance and more than 80 % of individuals with type 2 diabetes are also obese and a substantial number of these patients express abnormalities in insulin sensitivity and glucose metabolism. Physical exercise has been used as an important therapeutic resource for the treatment and prevention of several diseases caused by excessive adiposity. The stair climbing exercise for rodents may be an intervention strategy to study its effects on glucose metabolism. The objective of this work was to investigate the effects of a stair climbing exercise protocol on Balb/c mice fed a hyperlipidic diet on parameters associated with obesity and insulin resistance. For this purpose, 48 animals were divided into two groups (n = 24), and the chow group was fed a commercial diet (10% of calories of fat) and HFD group (of high fat diet) fed a high fat diet (42%) for 12 weeks. In the first four weeks, all the animals remained sedentary fed with their respective diets. In the fifth week all animals were adapted for climbing stairs and underwent physical pre-exercise tests of 3 maximum repetitions (3RM) and resistance. The groups were subdivided into sedentary groups and trained groups (n= 12/group). In the sixth experimental week, the training lasted for 6 weeks, starting with 5 sets of 6 climbs and loading of 80% of the weight of the 3RM test, progressing up to 6 sets of 8 climbs and loading corresponding to 110% of 3RM. The animals of the sedentary groups did not perform the physical exercise. At the end of the experiment all animals were submitted to post-exercise physical tests and glucose and insulin tolerance tests. Afterwards they were euthanized and adipose and muscular tissues were collected, as well as the serum for further analysis. The hyperlipidic diet worsened glucose tolerance, increased fasting glycemia, increased adiposity, epididymal adipocytes, and serum total cholesterol and HDL-cholesterol levels. Stair climbing training increased performance on the 3RM and resistance tests and increased the area of quadriceps and gluteus maximus myocytes in both trained groups. For the group fed with hyperlipid diet, physical exercise improved glucose tolerance and reduced the area of epididymal adipocytes. The ladder-climbing exercise protocol used in the present study was effective in improving some parameters altered by the hyperlipid diet in Balb/c mice.

**Key words:** obesity, insulin resistance, exercise, ladder exercise.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Divisão dos grupos experimentais. ....	26
<b>Figura 2:</b> Delineamento experimental. ....	27
<b>Figura 3:</b> Escada adaptada para camundongos .....	28
<b>Figura 4:</b> Camundongo com peso fixado à cauda.....	29
<b>Figura 5:</b> Protocolo de adaptação de subida em escada.....	29
<b>Figura 6:</b> Ingestão alimentar absoluta e ingestão calórica .....	34
<b>Figura 7:</b> Massa corporal ao longo do experimento, comprimento naso-anal, comprimento da tíbia e massa corporal final. ....	35
<b>Figura 8:</b> Teste de 3RM e resistência .....	36
<b>Figura 9:</b> Glicemia em jejum .....	36
<b>Figura 10:</b> Concentração plasmática de glicose e área sob a curva de ipGTT e ipITT .	37
<b>Figura 11:</b> Colesterol total, triglicérides e HDL-colesterol .....	38
<b>Figura 12:</b> Massa das gorduras epididimal, retroperitoneal e índice de adiposidade. ...	39
<b>Figura 13:</b> Imagens e área dos adipócitos epididimais .....	40
<b>Figura 14:</b> Imagem e área dos adipócitos retroperitoneais .....	41
<b>Figura 15:</b> Infiltrado inflamatório das gorduras epididimal e retroperitoneal .....	42
<b>Figura 16:</b> Imagem e área dos miócitos do músculo glúteo máximo. ....	43
<b>Figura 17:</b> Imagem e área dos miócitos do músculo reto femoral.....	44

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>Quadro 1</b> – Efeitos das adaptações crônicas aos exercícios de força e aeróbico .....	22
<b>Tabela 1</b> – Protocolo de exercício físico.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHO - carboidrato

PRO - proteína

GOR - gordura

RM - repetição máxima

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

LetFis - Laboratório Experimental de Treinamento Físico

HFD - *high fat diet*

Sed - sedentários

Tre - treinados

ipGTT - teste intraperitoneal de tolerância à glicose

ipITT - teste intraperitoneal de tolerância à insulina

vs - versus

Sed-chow - grupo sedentário alimentado com ração

Sed-HFD - grupo sedentário alimentado com dieta hiperlipídica

Tre-chow - grupo treinado alimentado com ração

Tre-HFD - grupo treinado alimentado com dieta hiperlipídica

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVO</b> .....	17
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	17
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	17
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>3.1 Obesidade induzida por dieta</b> .....	18
<b>3.2 Tipos de exercício e o <i>continuum</i> de adaptação força-resistência</b> .....	19
<b>3.3 Efeitos de diferentes tipos de exercício físico sobre alterações causadas pela obesidade induzida por dieta em camundongos</b> .....	23
<b>3.4 Exercício de subida em escada</b> .....	24
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	26
<b>4.1 Animais e condições experimentais</b> .....	26
<b>4.2 Delineamento experimental</b> .....	26
<b>4.3 Dieta</b> .....	27
<b>4.4 Protocolo de exercício físico</b> .....	28
4.4.1 <i>Adaptação</i> .....	29
4.4.2 <i>Teste 3RM e resistência</i> .....	30
4.4.3 <i>Protocolo de exercício físico</i> .....	30
<b>4.5 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose e à insulina</b> .....	31
<b>4.6 Eutanásia</b> .....	31
<b>4.7 Análises sanguíneas</b> .....	31
<b>4.8 Análises nos tecidos adiposo e muscular</b> .....	32
<b>4.9 Análise estatística</b> .....	33
<b>5 RESULTADOS</b> .....	34
<b>5.1 Ingestão alimentar</b> .....	34
<b>5.2 Variáveis antropométricas</b> .....	35

<b>5.3 Testes físicos</b> .....	35
<b>5.4 Parâmetros bioquímicos séricos</b> .....	36
<b>5.5 Perfil lipídico</b> .....	38
<b>5.6 Gorduras viscerais e índice de adiposidade</b> .....	39
<b>5.7 Hipertrofia dos adipócitos viscerais e infiltrado inflamatório</b> .....	40
<b>5.8 Hipertrofia dos músculos</b> .....	42
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	45
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	50
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	51
<b>ANEXO A</b> .....	60
<b>ANEXO B</b> .....	63





## 1 INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade aumentou em todo o mundo entre 1980 e 2013 em países desenvolvidos e em desenvolvimento, excedendo os 50% da população adulta em alguns países da Oceania, norte da África e Oriente Médio (ORTEGA *et al.*, 2016). No Brasil cresceu em 60% o número de pessoas com obesidade entre 2006 e 2016 (BRASIL, 2017). Ainda não foi encontrado nenhum país em que a obesidade tenha sido reduzida com sucesso e significativamente ao longo dos últimos 33 anos. Estes números são motivo de grande preocupação devido à forte ligação entre obesidade e doenças cardiovasculares, resistência à insulina e diabetes tipo 2 (ORTEGA *et al.*, 2016).

A obesidade é um dos principais contribuintes para a resistência à insulina. Mais de 80% dos indivíduos com diabetes tipo 2 também são obesos e um número substancial desses pacientes apresenta anormalidades na sensibilidade à insulina e no metabolismo da glicose (DHAR *et al.*, 2004). Assim como ocorreu com o aumento da prevalência da obesidade, o número de pessoas diagnosticadas com diabetes no Brasil cresceu mais de 60% entre 2006 e 2016 (BRASIL, 2017). O aumento dessas pandemias está intimamente associado e elas representam grandes ameaças globais à saúde pública (BRETHAUER *et al.*, 2013). Concomitante a esses problemas, os custos associados ao cuidado e gestão do diabetes em todo o mundo são significativos. As pessoas com diabetes têm mais visitas ambulatoriais, usam mais medicamentos, têm maior probabilidade de internação e são mais propensas a exigir cuidados de emergência e de longa duração (AFABLE *et al.*, 2016).

Intervenções já descritas sobre os fatores de risco para doenças metabólicas em pacientes com obesidade, abrangendo o manejo e prevenção do diabetes, incluem: a cirurgia bariátrica, porém os benefícios só surtem em longo prazo além de serem altamente invasivas (BRETHAUER *et al.*, 2013; PUZZIFERRI *et al.*, 2014); o uso de alguns medicamentos, entretanto, os essenciais para diabetes parecem estar menos acessíveis em países de baixa e média renda (BAZARGANI *et al.*, 2014); e intervenção no estilo de vida, como adoção de uma vida mais fisicamente ativa e dieta saudável (AFABLE *et al.*, 2016). Afable *et al.* (2016) explicam que mais eficazes são os programas de prevenção uma vez que estes parecem surtir maiores efeitos pois, já foi identificada uma redução de 58% no risco de desenvolver diabetes tipo 2 através de atividade física e alimentação adequada.

A atividade física tem sido utilizada como importante recurso terapêutico para o tratamento e prevenção de diversas doenças decorrentes do excesso de adiposidade. Sabe-se

que exercitar resulta em menor peso corporal, menor depósito de tecido adiposo e induz perfis anti-inflamatórios e antioxidantes (FARIAS *et al.*, 2013). Além disso, contribui para o aumento da aptidão cardiorrespiratória, aumento do vigor, melhora no controle glicêmico, diminuição da resistência à insulina e redução da pressão arterial (SIGAL *et al.*, 2013).

Cauza *et al.* (2005) concluíram que as intervenções de exercício somente aeróbico geralmente mostram pouco efeito sobre o controle da glicemia. Pesquisas sobre os efeitos do exercício resistido sobre o diabetes tipo 2, por exemplo, sugerem um impacto positivo nos resultados clínicos, se comparados com o exercício aeróbico, demonstrando melhorias nos níveis de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>) (ARORA *et al.*, 2009; CAUZA *et al.* 2005; BOULÉ *et al.*, 2003). Arora *et al.* (2009) mostraram que tanto o exercício resistido como o exercício aeróbico foram eficientes para melhorar o perfil metabólico de adultos com diabetes tipo 2, mas a melhora percentual em triglicerídeos, níveis de colesterol total e bem-estar geral com o exercício resistido foi mais significativa. Os autores ressaltaram, no entanto, a necessidade de estudos adicionais com número amostral maior para confirmar esses achados. Já Mardare *et al.* (2016) relataram que um exercício aeróbico em esteira para camundongos reduziu a glicemia de forma mais eficaz do que um exercício de força isométrica. Afable *et al.* (2016) também destacaram a necessidade de mais estudos experimentais de intervenções dietéticas e de exercícios físicos. Entre estes, são necessárias mais investigações sobre outros tipos de exercício físico sobre o metabolismo de glicose.

O exercício de subida em escada para roedores tem sido utilizado como uma forma de exercício resistido (CASSILHAS *et al.*, 2012 a; b; PEIXINHO-PENA *et al.*, 2012; SPERETTA *et al.*, 2016; NETO *et al.*, 2016). Este é um tipo de exercício de baixo custo, não implica em estímulo aversivo como choque para o animal realizar a subida, e é facilmente reproduzível. No entanto, ainda são escassos os estudos que tenham investigado o efeito do exercício de subida em escada sobre alterações metabólicas. Caruso *et al.* (2010) ao avaliarem os efeitos do exercício resistido em escada em ratos *Wistar*, observaram benefícios adaptativos na sensibilidade tecidual à insulina, sugerindo que este pode ser um recurso interessante durante programas de fisioterapia cardiovascular em doenças crônicas. Em humanos, o exercício de subida em escada foi recentemente estudado por meio de um treinamento de velocidade intervalado, que envolve breves pulsos intermitentes de exercício físico muito intenso, separados por períodos de recuperação e os resultados mostraram que a massa livre de gordura aumentou, sem alteração no percentual de gordura, e que a concentração sérica de insulina em jejum ( $p=0,07$ ) e sensibilidade à insulina ( $p=0,056$ )

melhoraram após o exercício (ALLISON *et al.*, 2016). Portanto, fica claro a partir dos poucos estudos da literatura, que o exercício de subida em escada é uma alternativa interessante para investigar adaptações metabólicas.

Considerando que o sistema fisiológico de alguns modelos animais, bem como suas respostas ao exercício são semelhante às encontradas em seres humanos, a utilização desses em programas de exercício físico pode ser uma ferramenta importante na manipulação das variáveis como volume e intensidade, por exemplo. Pesquisar métodos de exercício físico nesses animais possibilita melhor controle das respostas fisiológicas geradas em diferentes períodos do exercício por meio de tratamento e análises bioquímicas e histológicas mais precisas (ARAUJO *et al.*, 2010), podendo as informações coletadas servir de base a uma elaboração de exercício físico a ser aplicada em seres humanos para um fim previamente estabelecido.

Ponderando sobre a necessidade de estudos empenhados em investigar os modelos de exercício físico sobre variáveis como massa corporal, tecido adiposo, tolerância à glicose e resistência à insulina, juntamente com a crescente quantidade de trabalhos que verificam a influência do exercício físico em modelos animais, bem como a viabilidade e bom controle de procedimentos, intervenções e análises laboratoriais, incluindo a importância da determinação da intensidade do esforço do animal durante o exercício físico (ARAUJO *et al.*, 2010), este trabalho pretende estudar um protocolo de exercício de subida em escada utilizando camundongos Balb/c, para avaliar alterações em variáveis que acompanham a obesidade.

Este estudo surgiu com a necessidade de estabelecermos um treino que não demande equipamentos especiais e de grandes valores, considerando não somente os baixos recursos para pesquisas atuais e futuras, mas também, que este seja um modelo a se aplicar futuramente em humanos e visando a abrangência para todas as classes sociais. Allison *et al.* (2016) alertam sobre a importância de se estabelecer protocolos de exercícios físicos eficientes que não requerem equipamentos especiais e que poderiam ser facilmente adotados na rotina diária provocando um estresse metabólico semelhante a outros exercícios físicos que utilizam equipamentos mais sofisticados.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar os efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.

### **2.2 Objetivos específicos**

Investigar os efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica sobre:

- a massa corporal e a ingestão alimentar;
- a força muscular;
- a resistência muscular;
- a concentração sérica de jejum de glicose;
- a sensibilidade à insulina e a tolerância à glicose;
- a concentração sérica de triglicérides, HDL-colesterol e colesterol total;
- a massa das gorduras epididimal e retroperitoneal;
- o índice de adiposidade;
- a hipertrofia dos adipócitos epididimal e retroperitoneal;
- o infiltrado inflamatório nas gorduras epididimal e retroperitoneal;
- a hipertrofia dos miócitos dos músculos glúteo máximo e reto femoral.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Obesidade induzida por dieta

O sistema fisiológico de alguns modelos animais é semelhante ao encontrado em seres humanos, e a sua utilização em pesquisa pode ser uma ferramenta importante na manipulação de variáveis (ARAÚJO *et al.*, 2010), como a indução da obesidade por exemplo. O modelo de roedores para obesidade induzida pela dieta tornou-se uma das ferramentas mais importantes para a compreensão da interação das dietas ocidentais ricas em gordura com o desenvolvimento da obesidade (WANG; LIAO, 2012).

Segundo Heydemann (2016) uma verdadeira "dieta ocidental" teria alto teor de gordura e de carboidratos. As dietas com alto teor de ácidos graxos saturados são mais obesogênicas do que aquelas ricas em mono e poliinsaturados, pois os ácidos graxos saturados são ineficientemente utilizados para a produção de energia e, portanto, são mais facilmente armazenados.

O modelo de obesidade induzida pela dieta mimetiza de perto a crescente disponibilidade de alimentos ricos em gordura na sociedade moderna nas últimas duas décadas, que é um dos principais contribuintes para o aumento da prevalência da obesidade em humanos (WANG; LIAO, 2012). A obesidade humana e seus distúrbios relacionados, incluindo diabetes tipo 2, são influenciados por fatores genéticos e ambientais (nutricionais e/ou hormonais) que podem ser mais facilmente estudados em modelos murinos (DHAR *et al.*, 2004).

Vários modelos de obesidade e de diabetes tipo 2 já foram desenvolvidos em roedores (DHAR *et al.*, 2004). Apesar de os camundongos da linhagem Balb/c não serem citados como o melhor modelo para se induzir a obesidade e/ou a resistência à insulina, autores explicam que se administrada uma dieta hiperlipídica e hipercalórica que contenha pelo menos 40% de calorias provenientes de lipídios, logo após o desmame, é possível adquirir certo grau de obesidade podendo-se induzir, por exemplo, a síndrome metabólica nestes animais (YOSHIMURA, 2014; MONTGOMERY *et al.*, 2013; NISHIKAWA *et al.* 2007). Montgomery *et al.* (2013), ao administrar dieta com 45% de calorias de gordura, 20% de proteínas e 35% de carboidratos, em diferentes linhagens de camundongos com oito semanas de vida, observaram que todas as cepas, incluindo a Balb/c, tiveram a adiposidade corporal total aumentada, assim como o tamanho dos depósitos de gordura epididimal e

inguinal. Nishikawa *et al.* (2007) observaram aumento do acúmulo de gordura corporal em Balb/c causado por dieta com 57,5% das calorias provenientes de gordura, 19,7% de proteínas e 22,8% de carboidratos. Da mesma forma, Yoshimura (2014) ao administrar uma dieta hiperlipídica e hipercalórica nesta mesma linhagem de camundongos com 18 dias de vida, observou um ganho de massa de  $147,07 \pm 14,7\%$  após 20 semanas de experimento, em relação à massa inicial, adquirindo praticamente o dobro do que os animais do grupo controle ganharam.

A fim de desenvolver uma dieta que induzisse um certo grau de obesidade em camundongos Balb/c, o grupo de estudos deste trabalho padronizou uma dieta hiperlipídica (adaptadas de YOSHIMURA, 2014) em animais com três semanas de vida durante 11 semanas, e apesar de não identificarmos diferença na massa corporal dos animais, observamos maior acúmulo de gordura epididimal, mesentérica e retroperitoneal (dados não publicados, ANEXO A). Concluímos então que esta seria mais adequada para desenvolver alterações causadas pela dieta hiperlipídica em modelo de camundongos Balb/c para este estudo.

### **3.2 Tipos de exercício e o *continuum* de adaptação força-resistência**

Embora muito bem documentada a eficácia do exercício físico em melhorar o controle glicêmico, o perfil de lipídios no sangue, reduzir o risco subsequente de diabetes tipo 2 e melhorar a aptidão cardiorrespiratória (AUNE *et al.*, 2015), há menos certeza sobre os efeitos relativos de diferentes tipos de exercício físico (YANG *et al.*, 2013).

De acordo com Mann *et al.* (2014) "exercício físico" refere-se à atividade física planejada ou estruturada, realizada por uma razão, por exemplo, exercício aeróbio ou resistido. Sigal *et al.* (2013) explicam que o exercício aeróbio é a atividade física que envolve movimentos rítmicos, cíclicos e contínuos que envolvem grandes grupos musculares por pelo menos 10 minutos, como caminhar, pedalar ou correr. O exercício aeróbio é caracterizado por um grande número de contrações realizadas com o desenvolvimento de uma força relativamente baixa, aumenta a capacidade do músculo para o metabolismo aeróbico promovendo sua adaptação para um fenótipo mais oxidativo, sem o objetivo de promover hipertrofia muscular ou aumento da força. As adaptações provenientes deste exercício físicos possibilitam que os indivíduos previamente não treinados aumentem acentuadamente sua capacidade física por períodos prolongados em intensidades que possam ser mantidas por apenas alguns minutos no estado não treinado (MEO *et al.*, 2017). O exercício de força,

exercício resistido ou exercício com pesos é o conjunto de meios que visa o desenvolvimento e/ou a manutenção de qualidades físicas relacionadas às estruturas músculo-articulares, podendo também reabilitá-las (BITTENCOURT, 1986). O exercício de força engloba o conceito de resistido, fazendo referência a exercícios contra uma resistência mensural, sendo uma carga externa facilmente conhecida, envolvendo a condição que possibilita o controle minucioso das variáveis agudas do exercício físico, especialmente a intensidade. O exercício resistido engloba qualquer tipo de exercício físico que seja contra a resistência, quer seja ela uma carga opositora, o próprio corpo, elásticos, ou a resistência do ar (como em corrida de paraquedas) (FLECK; KRAEMER, 2017)

O exercício aeróbico e o exercício resistido são os extremos do que é conhecido como o conceito de *continuum* de força-resistência (EGAN; ZIERATH, 2013; KNUTTGEN, 2007). Resumidamente, esse conceito traz que as adaptações de força e de resistência muscular serão causadas pelo estímulo ao qual o músculo é submetido. Realizar exercícios físicos com cargas próximas à força máxima (na prática a força máxima é medida pela capacidade de realizar uma repetição máxima em um determinado movimento) e poucas repetições induz adaptações na força, ao passo que realizar exercícios com cargas baixas e altas repetições induz adaptações na resistência muscular. Nesse conceito está implícito que qualquer exercício físico que não se encontre nos extremos do *continuum*, irá induzir graus variados de adaptação de força e resistência (EGAN; ZIERATH, 2013; KNUTTGEN, 2007). Indo ao encontro dessa ideia, por exemplo, Roemers *et al.* (2018) observaram que um exercício de corrida com resistência em camundongos induziu adaptações tanto de aumento de força e hipertrofia, quanto melhorou a resistência em teste em esteira e reduziu a massa da gordura epididimal.

O quadro a seguir mostra as adaptações crônicas aos exercícios resistido (força) e aeróbico. Embora tanto o exercício aeróbico quanto o exercício resistido possam individualmente promover benefícios substanciais à saúde, efeitos divergentes são observados dependendo do parâmetro de interesse (EGAN; ZIERATH, 2013). Por exemplo, o exercício aeróbico modifica de forma mais eficaz os fatores de risco cardiovascular, enquanto o exercício resistido mantém de forma mais eficaz a taxa metabólica basal, a massa muscular e a função física em idosos. No entanto, em comparação com a modalidade isolada, uma combinação de exercício aeróbico e resistido é mais eficaz para reduzir a resistência à insulina e limitações funcionais na obesidade, na síndrome metabólica (DAVIDSON *et al.*, 2009) e melhorar o controle glicêmico no diabetes mellitus tipo 2 (SIGAL *et al.*, 2007). A eficácia do

exercício combinado aeróbico e resistido como parte da intervenção no estilo de vida está refletida nas diretrizes recentes de exercícios físicos (COLBERG *et al.*, 2010).



**Quadro 1– Efeitos das adaptações crônicas aos exercícios de força e aeróbico (modificada de Egan e Zierath, 2013)**

<b>Morfologia Muscular Esquelética e Desempenho no Exercício Físico</b>		
	<b>Aeróbico</b>	<b>Força</b>
<b>Hipertrofia muscular</b>	Inalterado	Grande
<b>Potência e força e muscular</b>	Ligeira alteração	Grande
<b>Tamanho da fibra muscular</b>	Sem mudanças	Grande
<b>Adaptações neurais</b>	Sem mudanças	Grande
<b>Capacidade anaeróbica</b>	Aumenta	Grande
<b>Síntese proteica miofibrilar</b>	Inalterado	Grande
<b>Síntese de proteínas mitocondriais</b>	Médio	Grande
<b>Tolerância ao lactato</b>	Médio	Inalterado
<b>Capilarização</b>	Médio	Inalterado
<b>Densidade mitocondrial e função oxidativa</b>	Grande	Inalterado
<b>Capacidade de resistência</b>	Grande	Inalterado
<b>Saúde metabólica e do corpo todo</b>		
	<b>Aeróbico</b>	<b>Força</b>
<b>Densidade mineral óssea</b>	Aumenta	Aumenta
<b>Porcentagem de gordura corporal</b>	Médio	Diminui
<b>Massa corporal magra</b>	Inalterado	Aumenta
<b>Níveis de insulina em repouso</b>	Diminui	Diminui
<b>Resposta da insulina ao teste de glicose</b>	Diminui	Médio
<b>Sensibilidade à insulina</b>	Aumenta	Aumenta
<b>Marcadores Inflamatórios</b>	Diminui	Diminui
<b>Frequência cardíaca em repouso</b>	Diminui	Inalterado
<b>Sistólico</b>	Sem mudanças	Inalterado
<b>Diastólico</b>	Sem mudanças	Sem mudanças
<b>Perfil de risco cardiovascular</b>	Diminui muito	Diminui
<b>Taxa metabólica basal</b>	Aumenta	Aumenta bem
<b>Flexibilidade</b>	Aumenta	Aumenta
<b>Postura</b>	Inalterado	Aumenta
<b>Habilidade em atividades da vida diária</b>	Sem mudanças	Aumenta bem

### **3.3 Efeitos de diferentes tipos de exercício físico sobre alterações causadas pela obesidade induzida por dieta em camundongos**

Na literatura podem-se encontrar diversos estudos que utilizaram diferentes tipos de exercício físico em camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta. Evans *et al.* (2014) mediram através de hodômetros a distância percorrida por camundongos C57BL/6J em um exercício físico voluntário em roda de *hamster* de 14,6 cm sem carga onde o movimento da roda foi registrado 24 h/dia, 7 dias/semana. Foi observado que os animais correram espontaneamente na roda  $82 \pm 3.9$  km/semana e  $89 \pm 7.9$  km/semana nos grupos que receberam dieta *low fat* e *high fat*, respectivamente. Esse exercício, por si só, teve efeitos significativos no equilíbrio relativo da microbiota gastrointestinal de forma proporcional à distância percorrida, em simultâneo com a prevenção da obesidade induzida por dieta e a normalização na tolerância à glicose.

Rao *et al.* (2013) treinaram camundongos C57BL/6J com exercícios em uma esteira motorizada a uma velocidade de 15 m/min, 40 min/dia e 5 dias/semana durante 8 semanas e foram observadas melhoras na sensibilidade à insulina em animais obesos. Já Mardare *et al.* (2016) pesquisaram os efeitos de diferentes regimes de exercícios físicos nas vias metabólicas e inflamatórias em camundongos C57BL/6 alimentados com dieta de alto teor de gordura. Foi observado que tanto o exercício em uma esteira elétrica a 80%  $VO_2$  máx., 30 minutos por dia, 5 vezes na semana, durante 10 semanas, como o exercício de força isométrica, no qual os camundongos se agarravam de frente com as patas em uma malha metálica em posição vertical, realizado 5 vezes por semana em 3 séries de 3 minutos foram efetivos na reversão ou na atenuação da intolerância à glicose induzida pela dieta (MARDARE *et al.*, 2016).

Segundo Mardare *et al.* (2016) os efeitos de regimes de exercícios físicos diferenciados sobre algumas variáveis como a inflamação do tecido adiposo em camundongos, por exemplo, até agora não foram investigados em um estudo coeso. No entanto, apesar de um grande número de publicações relacionadas, uma visão abrangente dos modos, intensidades e frequências da atividade física ideal em camundongos, no contexto do perfil lipídico, não foram encontradas.

### 3.4 Exercício de subida em escada

Tradicionalmente, o exercício de subida em escada por roedores tem sido utilizado como um tipo de exercício resistido (NETO *et al.*, 2016). Além disso, Neto *et al.* (2016) identificaram na literatura mais de 40 estudos de exercício de escalada vertical em diferentes equipamentos e protocolos adaptados para roedores, e em sua maioria foram utilizados ratos. Em 1990 Yarasheski *et al.* (1990) propuseram um modelo de treino resistido em que ratos machos *Long Evans* com 3 semanas de idade escalaram um equipamento de cilindro vertical de 40 cm (90°) carregando uma carga contínua para o topo, para receber alimentos como recompensa. O protocolo de exercício físico consistiu em escalar o aparelho 20 vezes, 5 dias por semana durante oito semanas e foi eficaz para estimular a hipertrofia muscular nos animais. Em outro estudo, ratos *Holtzman* machos foram submetidos a exercício resistido escalando uma escada vertical em 3 dias por semana durante 10 semanas, com peso de 50-60% da capacidade de carga voluntária máxima. Cada sessão de exercício consistiu em 15-20 escaladas com um intervalo de descanso de 30 s entre as escaladas com um aparelho de carga fixado na cauda. O exercício resistido impediu a diminuição da sensibilidade à insulina e o aumento dos níveis sanguíneos de glicose (SPERETTA *et al.*, 2016). Semelhante a este, um modelo de exercício em escada em ratos *Wistar*, com protocolo que consistia de 8 a 10 movimentos de escalada e com um aparato de peso fixado em suas caudas, obteve um aumento na força muscular e menor peso corporal (RODRIGUES *et al.*, 2017). Resultados parecidos foram encontrados por Son *et al.* (2016) que treinaram ratos machos *Sprague-Dawley* por 12 semanas, 10 sessões por dia e 3 dias por semana. Do mesmo modo, Duncan *et al.* (1998) também treinaram ratos *Wistar* em escada vertical enquanto carregavam cargas progressivamente mais pesadas e após 26 semanas de exercício, os ratos foram capazes de levantar até 140% da massa corporal individual para quatro séries de 12-15 repetições por sessão.

A literatura é mais escassa em relação aos estudos que utilizaram camundongos e exercício de subida em escada. Na revisão realizada por Neto *et al.* (2016), foi descrito apenas um estudo realizado em camundongos. Mori *et al.* (2003) observaram que um exercício de escalada para camundongos C57BL/6J, com 8 semanas de idade, aumentou o volume ósseo e o potencial osteogênico da medula óssea. Os animais foram alojados em uma torre de 100 cm e tiveram que subir em direção a uma garrafa colocada no topo para beber água. As distâncias

diárias e os períodos de tempo da atividade de escalada foram calculados a partir dos registros de monitoramento.

Encontramos estudos mais recentes que utilizaram camundongos e o exercício de subida em escada. Ferraresi *et al.* (2014) utilizaram um exercício de subida em escada adaptada para camundongos Balb/C machos com 8 semanas de vida. O protocolo consistiu em 6 sessões, uma a cada 48 h, sendo 5 séries de 10 repetições (subidas) na escada, com tempos de descanso de 2 min entre as séries e uma carga fixada à cauda do animal que foi progressivamente aumentada e calculada a cada sessão. Este treino foi utilizado para analisar os efeitos associados à fototerapia e mostrou uma clara melhoria no desempenho muscular, metabolismo energético e defesa do estresse oxidativo. Kim *et al.* (2015) também realizaram exercício de escalada em escada (1 m com grades de 1,5 cm ângulo de 85 graus) em camundongos C57BL/6 machos porém com 19 meses de idade, com peso fixado na cauda, 3 dias por semana durante 12 semanas, o estudo revelou que a proteína irisina circulante, que é secretada pelo músculo em resposta ao exercício, foi significativamente aumentada concomitantemente com a melhora na força muscular após exercício de resistência nos camundongos envelhecidos.

A fim de desenvolver um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos Balb/c que tivesse além do componente de força, o componente de resistência, nosso grupo realizou um estudo piloto (dados não-publicados, ANEXO B). Nosso objetivo principal era desenvolver um protocolo que fosse efetivo sobre parâmetros alterados pela dieta hiperlipídica. O protocolo realizado consistiu em 6 séries de 12 subidas, 3 vezes por semana, durante 6 semanas, no qual os animais subiram com peso fixado na cauda. A carga foi aumentada progressivamente iniciando com 50% do peso alcançado em teste de três repetições máximas, aumentando 10% a cada semana. Observamos uma tendência à melhora na tolerância à glicose no teste de tolerância intraperitoneal de glicose (ipGTT), bem como na área sob a curva do teste, embora o efeito sobre a massa corporal tenha sido tênue. Além disso, houve nítida redução na massa das gorduras epididimal e retroperitoneal em resposta ao treino e efeito menos óbvio sobre a gordura mesentérica.

Fica claro a partir dos trabalhos citados, que ainda são necessários mais estudos com camundongos e o exercício de subida em escada. Neto *et al.* (2016) também ressaltaram esse ponto em sua revisão e destacaram que seria interessante adaptar uma escada a roedores menores e mais ativos, como os camundongos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

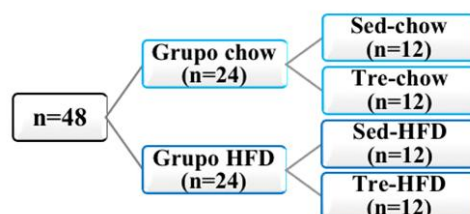
### 4.1 Animais e condições experimentais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem Balb/c, com 3 semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais, que foram mantidos, manipulados e eutanasiados de acordo com os princípios adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (<http://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/index.html>). Os camundongos foram acondicionados individualmente em caixas de polipropileno (30x20x13 cm), adaptados a ciclo claro/escuro invertido de 12/12h, em temperatura ambiente de  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ , com acesso *ad libitum* à água e às respectivas dietas. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (protocolo 016/2016) e conduzido no Laboratório Experimental de Treinamento Físico (LetFis) dessa instituição.

### 4.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado com 48 animais divididos em 2 grupos (n=24) sendo grupo *chow* alimentado com ração comercial e grupo HFD (de *high fat diet*) alimentado com dieta hiperlipídica. Esses grupos foram subdivididos em grupos sedentários (Sed) e grupos treinados (Tre). Assim os 4 grupos experimentais (n=12/grupo) foram: sedentário alimentado com ração (Sed-chow), sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (Sed-HFD), treinado alimentado com ração (Tre-chow) e treinado alimentado com dieta hiperlipídica (Tre-HFD) (FIG. 1).

Figura 1: Divisão dos grupos experimentais

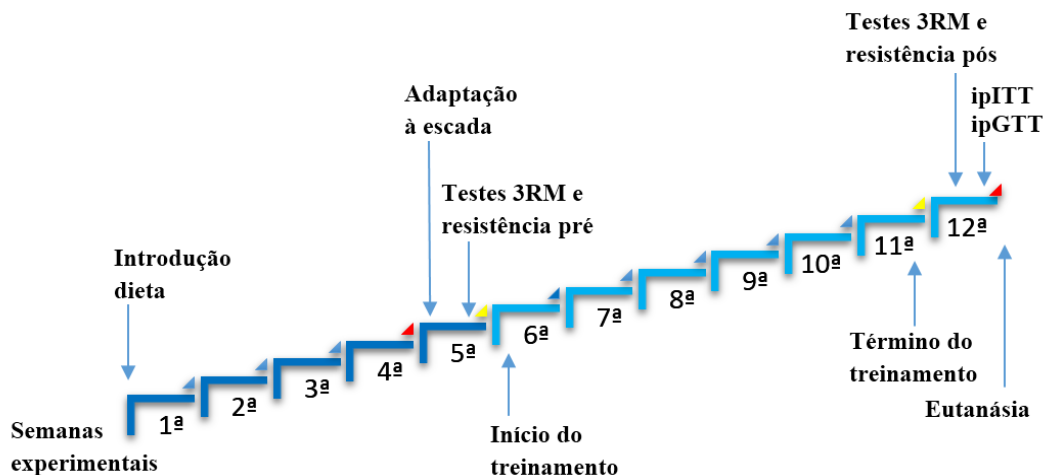


A primeira semana experimental iniciou-se com a introdução de dieta hiperlipídica ou ração comercial. Até a quarta semana experimental os animais permaneceram

sedentários e na quinta semana todos foram adaptados para a subida em escada, em seguida foram submetidos aos testes de 3RM e de resistência que também foram repetidos após 6 semanas de exercício físico. O exercício para os grupos Tre-chow e Tre-HFD ocorreu da 6<sup>a</sup> à 11<sup>a</sup> semana experimental.

A massa corporal e a ingestão alimentar foram aferidas semanalmente. Os ipGTT e teste intraperitoneal de tolerância à insulina (ipITT) foram realizados nos dias subsequentes aos testes de 3RM e de resistência após o período de exercício físico a fim de se caracterizar a indução da intolerância à glicose e resistência à insulina pela dieta hiperlipídica e os efeitos do exercício nessas variáveis. Vinte quatro horas após os testes os animais foram eutanasiados e retirados os tecidos para posteriores análises. O delineamento experimental está esquematizado na figura 2.

**Figura 2: Delineamento experimental**



### 4.3 Dieta

O grupo *chow* foi alimentado com ração comercial (Nuvilab, Quimtia) e o grupo HFD recebeu dieta hiperlipídica contendo 39% de carboidratos, 19% de proteínas e 42% de gorduras tendo 32% de calorias a mais que a ração (composição dieta 1 da tabela 1).

O preparo da dieta foi realizado em condições apropriadas de higiene, e a massa resultante da mistura dos ingredientes foi prensada manualmente através de seringas de 20 ml onde a tampa para fixar a agulha foi cortada, dessa forma a dieta era introduzida na seringa e prensada contra a mão através do êmbolo até que o *pellet* fosse formado e ejetado em um

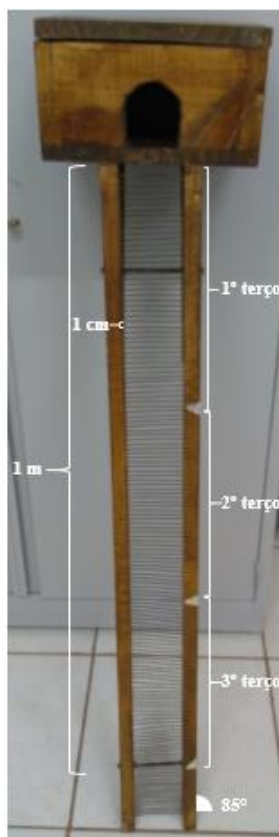
recipiente que posteriormente permaneceu tampado, sob congelamento, até o momento da utilização.

A dieta foi oferecida aos grupos HFD a partir da terceira semana de vida e os animais foram tratados por 12 semanas, sendo as 7 últimas semanas simultâneas para dieta, intervenção com adaptação à subida em escada, testes físicos e exercício físico.

#### 4.4 Protocolo de exercício físico

A adaptação, os testes de 3RM, resistência e o exercício físico foram realizados em escada vertical adaptada para camundongos construída em madeira e pequenos fios de arame liso, com um compartimento fechado em cima para repouso do animal, inclinação de 85°, 1 metro de altura e espaço de 1 centímetro entre os degraus (figura 3).

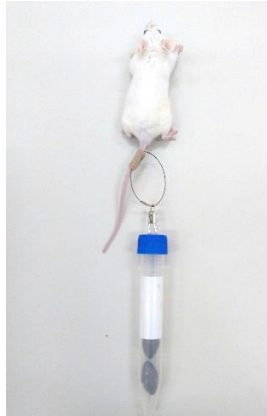
**Figura 3:** Escada adaptada para camundongos



Pesos foram fixados à cauda dos animais que consistia em pesos de chumbo dentro de um tubo *falcon* e anexo à parte proximal da cauda do animal por um fio de linha de

pesca preso à tampa do tubo e aderido com uma bandagem auto-adesiva da marca Cohere (figura 4).

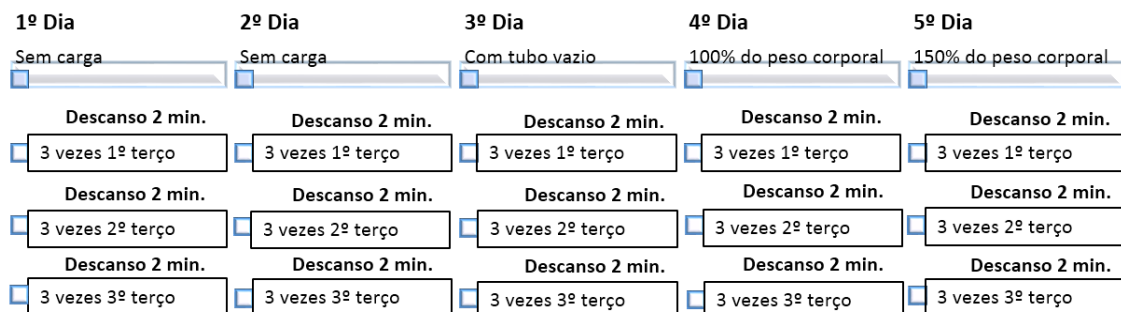
**Figura 4: Camundongo com peso fixado à cauda**



#### 4.4.1 Adaptação

Na semana anterior ao início do exercício físico foi realizada adaptação de subida em escada, inicialmente sem peso progredindo com peso de forma progressiva por 5 dias. Para isso, a escada foi marcada em três terços iguais, assim o animal era colocado no compartimento no topo da escada por 2 minutos e em seguida era colocado para subir por três vezes do primeiro (33,3 cm), segundo (66,6 cm) e terceiro terço (1 m) da escada e sempre descansava por 2 minutos entre cada terço no compartimento do topo da escada como esquematizado na figura 5.

**Figura 5: Protocolo de adaptação de subida em escada**







#### **4.5 Teste de tolerância intraperitoneal à glicose e à insulina**

O teste de tolerância à glicose foi realizado ao final da 6ª semana de exercício físico 24 horas após o teste de resistência. Os animais permaneceram em jejum por 4 horas e receberam injeção intraperitoneal 1mg/g de massa corporal de uma solução a 20% (em solução salina) de D-glicose. Amostras de sangue foram coletadas da ponta da cauda antes (0 minutos) e nos minutos 15, 30, 60 e 120 após a injeção de D-glicose (MORTON *et al.*, 2001). A concentração sanguínea de glicose foi medida por meio de corte na ponta da cauda com medidor portátil de glicose (Roche, Accu-ChekPerforma Nano, Rio de Janeiro, Brasil).

Para o teste de tolerância intraperitoneal à insulina, realizado 24 horas após o teste de tolerância à glicose, os animais não foram submetidos ao jejum (COSTA-JUNIOR *et al.*, 2015) e 0,5 U/kg de massa corporal de insulina (Insulina recombinante humana, Humulin Regular 100UI/ml, Lilly) foi injetada intraperitonealmente e a glicemia foi medida nos mesmos tempos e método descrito para o teste de tolerância à glicose.

#### **4.6 Eutanásia**

Vinte e quatro horas após o teste de tolerância à insulina, os animais foram anestesiados com xilazina (Syntec, Cotia, Brasil) (10 a 15 mg/kg) mais ketamina (Syntec, Cotia, Brasil) (100 a 150 mg/kg) e mensurou-se a massa corporal (balança semi-analítica, Marte, UX420H, Philippines) e o comprimento naso-anal (régua 30 cm, Waleu).

O sangue foi coletado por meio de corte na ponta da cauda (aproximadamente 300 µL). Em seguida, os animais foram eutanasiados através do método físico de deslocamento cervical, retirados os tecidos de interesse e a tibia direita foi limpa e seu comprimento mensurado através de paquímetro digital (Mitutoyo, Solar CoolantProofAbsolute, Suzano, Brasil) para verificação do crescimento dos camundongos.

#### **4.7 Análises sanguíneas**

As amostras sanguíneas foram centrifugadas (ThermoScientific, Langensfeld, Alemanha) a 3000 x g, 20 minutos, 4° C, aliquotadas e armazenadas a -20° C até o uso. Foram medidas as concentrações séricas de triglicérides (TG) (Labtest, Triglicérides Liquiform, Lagoa Santa, Brasil), lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol (Labtest, HDL, Lagoa Santa, Brasil) e colesterol total (CT) (Labtest, Colesterol Liquiform, Lagoa Santa, Brasil).

#### 4.8 Análises nos tecidos adiposo e muscular

Os tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal foram retirados, limpos em soro fisiológico, secos em papel absorvente e pesados para cálculo do índice de adiposidade, que se calcula somando a massa dessas gorduras, dividindo pela massa corporal do animal e multiplicando por 100. Essa medida apresenta alta correlação com o percentual de gordura total (TAYLOR; PHILLIPS, 1996).

A hipertrofia dos adipócitos e das fibras musculares foi avaliada por meio de análise histológica. As amostras de tecidos foram fixadas em solução de formol tamponado (10%) durante 24 horas e, posteriormente, transferidas para solução de álcool 70%. Após esse procedimento, as amostras foram desidratadas em série alcoólica crescente (70%, 80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II), permanecendo 30 minutos em cada. Em seguida, as amostras foram diafanizadas em xilol (I e II) permanecendo 30 minutos em cada. Então, foram submetidas à impregnação por parafina (Merck®) líquida a 60° C, derretida em estufa (MedClave®), distribuída em três béqueres, permanecendo 60 minutos em cada, sendo a inclusão realizada com a parafina de um quarto béquer. Após a inclusão, os blocos de parafina contendo as amostras foram submetidas à microtomia (Lupetec®) em seções de 5 µm, com intervalos de 20 cortes.

Os cortes selecionados foram sobrepostos em lâminas microscópicas de 25,4 x 76,2 mm devidamente identificadas. Para a coloração, os cortes foram previamente submetidos à desparafinização com xilol (I, II e III) permanecendo por 3 minutos em cada, seguida pela hidratação em série alcoólica decrescente (100% I, 100% II, 100% III, 95%, 90%, 80%, 70%) durante 3 minutos em cada. Logo, foi realizada a coloração com hematoxilina (EasyPath®) durante 5 minutos, seguida pela diferenciação em água corrente durante 15 minutos e pela desidratação em álcool 70% e 80%, durante 3 minutos em cada. Foi realizada, então, a coloração com eosina (Cromoline®) durante 10 minutos, seguida pela desidratação com gradiente crescente de álcool (90%, 95%, 100% I, 100% II, 100 % III) permanecendo 3 minutos em cada. Em seguida, os cortes foram submetidos à clarificação com xilol (I, II e III), permanecendo 3 minutos em cada. Por fim, foi realizada a montagem da lâmina e lamínula utilizando verniz vitral (Acrilex®) como meio de montagem.

Para a avaliação e documentação fotográfica foi utilizado um fotomicroscópio (Zeiss – Primo Star®) com uma câmara digital acoplada (Axiocam®), utilizando um aumento de 100x, obtendo-se 3 imagens de áreas diferentes em cada lâmina. A área das células foi

mensurada com auxílio do programa ImajeJ (ImageJ 1.51, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA), a fim de verificar a hipertrofia das mesmas. A análise foi realizada de forma manual, onde inicialmente era realizada a calibração do programa, e, depois, a marcação do contorno de 100 células por amostra. A mensuração da área das células ocorreu de forma automática, pelo próprio programa. Os valores obtidos foram tabulados para posterior análise estatística.

A fim de verificar o grau de infiltrado inflamatório, a foto foi convertida em imagem preto e branco de 32 bits, então o primeiro ajuste foi para quantificar áreas permeadas em células inflamatórias e preservava-as em pontos negros na imagem. O segundo limiar era ajustado para quantificar áreas totais contidas no adipócito. A área do infiltrado foi normalizada pela área total resultando em porcentagens de área com células inflamatórias apresentadas em nossos resultados (YOSHIMURA *et al.*, 2016).

#### 4.9 Análise estatística

Para fins do cálculo amostral ( $n$ ) utilizou-se um valor crítico para evitar o erro do tipo 1 ( $Z\alpha$ ) de 0,05, um valor crítico para evitar o erro do tipo 2 ( $Z\beta$ ) de 95%, um desvio-padrão de  $1318 \text{ mg.dL}^{-1}$ , valor da área sob a curva no teste de tolerância à glicose de um estudo piloto (dados não publicados) e uma diferença mínima a ser detectada de  $1450 \text{ mg.dL}^{-1}$ . Com base nesses parâmetros, o  $n$  encontrado foi de 12 animais por grupo.

Para análise estatística dos dados utilizou-se o *software* Statistica (v10.0, StatSoft, Inc). Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade dos dados. Para comparação entre os grupos utilizou-se:

- análise de variância com duas fontes de variação, sendo dieta (HFD ou chow) e exercício físico (Tre ou Sed) (ANOVA Two Way);
- análise de variância com duas fontes de variação, sendo dieta (HFD ou chow) e exercício físico (Tre ou Sed) com medidas repetidas (RM ANOVA Two Way) quando necessário.

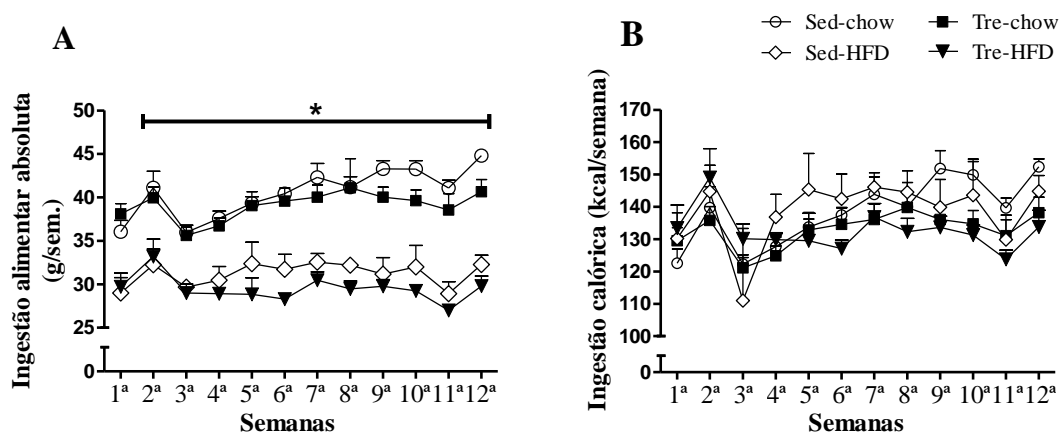
Quando detectadas diferenças significantes, os testes foram seguidos do *post-hoc* de Fisher LSD, para detecção pontual das diferenças. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Ingestão alimentar

A figura 6 mostra a diferença de ingestão alimentar absoluta e ingestão calórica entre os grupos ao longo do experimento. Os animais dos grupos HFD tiveram uma ingestão alimentar menor que os dos grupos *chow* ao longo do experimento ( $p < 0,05$ ) (A). Não houve diferença estatística com relação à ingestão calórica (B).

Figura 6: Ingestão alimentar absoluta e ingestão calórica

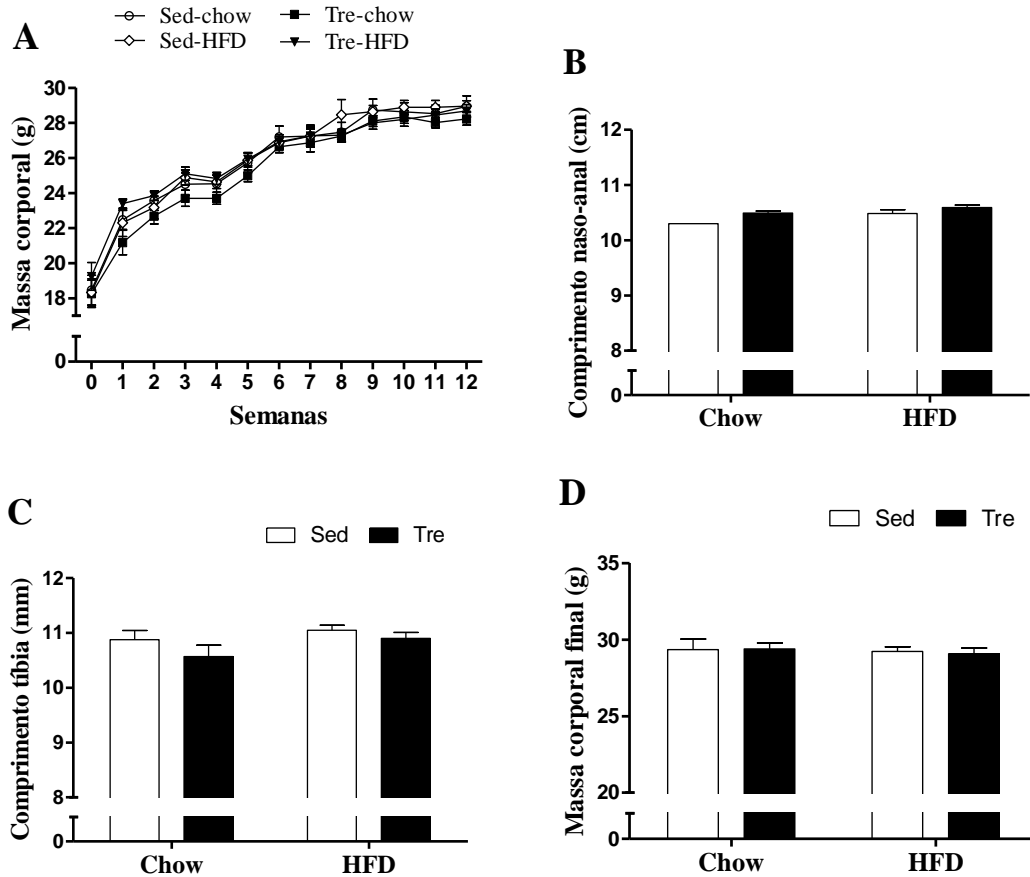


Legenda: ingestão alimentar absoluta (A) e ingestão calórica (B) em camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) ( $n=12$ /grupo, estatística por ANOVA *Two Way* e de medidas repetidas, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \* $p < 0,05$  HFD vs *chow*.

### 5.2 Variáveis antropométricas

O exercício físico e a dieta hiperlipídica não proporcionaram diferença sobre a massa corporal entre os grupos ao longo das semanas experimentais como observado na figura 7 (A). O mesmo pode ser observado para o comprimento naso-anal (B), comprimento da tibia (C) e a massa final no dia da eutanásia (D).

**Figura 7: Massa corporal ao longo do experimento, comprimento naso-anal, comprimento da tíbia e massa corporal final**

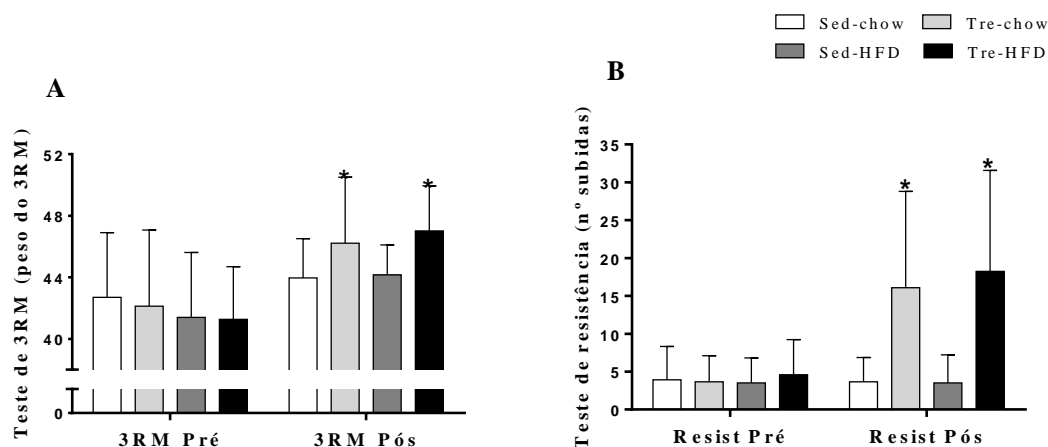


Legenda: massa corporal ao longo do experimento (A), comprimento naso-anal (B), comprimento da tíbia (C) e massa corporal final (D) medida no dia da eutanásia de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

### 5.3 Testes físicos

A figura 8 mostra os resultados para os testes físicos de 3RM (A) e resistência (B) pré e pós-exercício. Não foi observado efeito da dieta no teste de 3RM pré-exercício. No teste de 3RM pós-exercício, foi observado efeito do exercício, sendo que os grupos treinados apresentaram maiores valores em relação aos grupos sedentários (A) ( $p < 0,05$ ). No teste de resistência não houve diferença entre os grupos pré-exercício, mas pós-exercício os animais dos grupos treinados apresentaram melhor desempenho físico se comparados com os grupos sedentários ( $p < 0,05$ ).

**Figura 8: Teste de 3RM e teste de resistência**

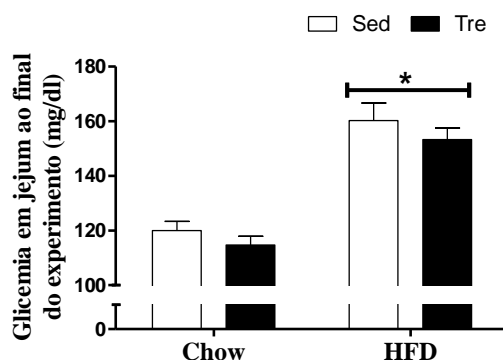


Legenda: teste de 3RM (A) e teste de resistência (B) pré e pós exercício de subida em escada de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \* $p < 0,05$  vs sedpós-exercício.

#### 5.4 Parâmetros bioquímicos séricos

A glicemia mensurada em jejum no dia da eutanásia apresentou diferenças significativas entre os grupos HFD e *chow*, onde foi observado um aumento dos valores para os grupos Sed-HFD e Tre-HFD se comparados com os demais grupos ( $p < 0,05$ ) (Figura 9).

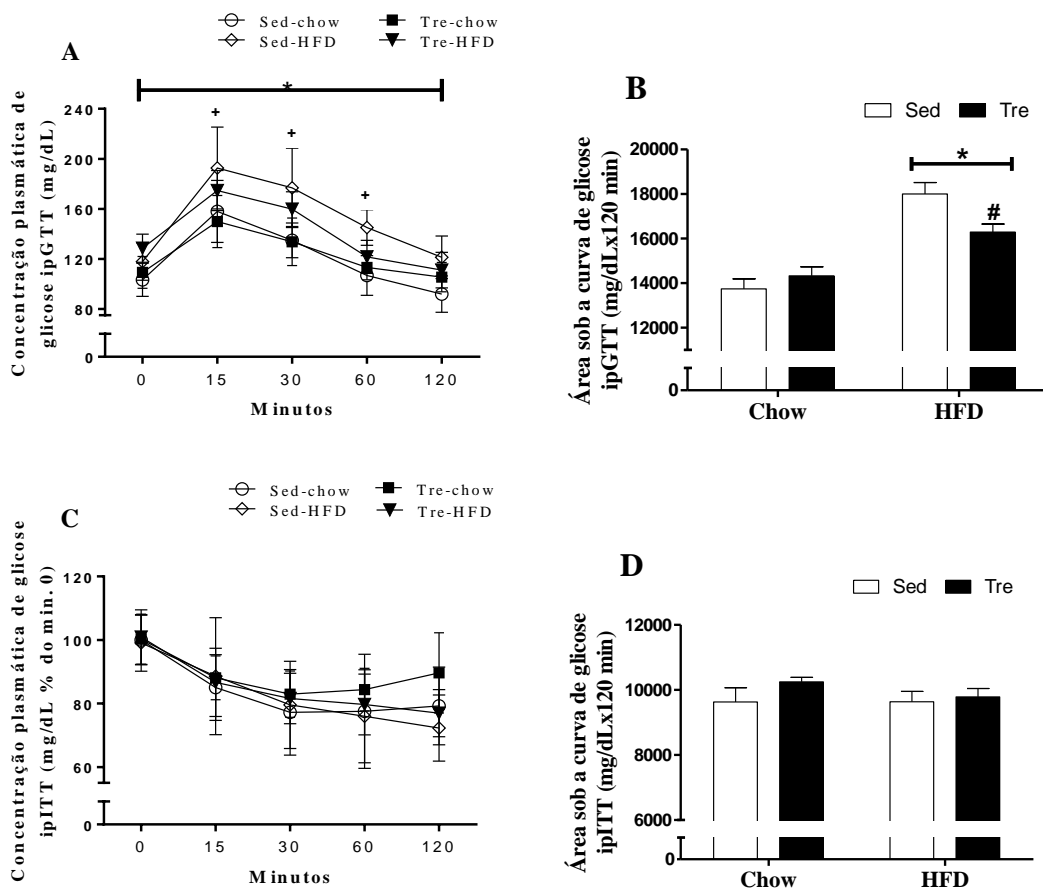
**Figura 9: Glicemia em jejum**



Legenda: Glicemia em jejum no dia da eutanásia de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \* $p < 0,05$  HFD vs *chow*.

Na figura 10 está representada a resposta ao teste intraperitoneal de tolerância à glicose, o de tolerância à insulina e a área sob a curva dos respectivos testes realizados ao final do experimento. Os animais dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica foram menos tolerantes à glicose se comparados aos controles ( $p < 0,05$ ) (A), o que refletiu em maior área sob a curva para estes animais ( $p < 0,05$ ) (B). Ao analisar os dois grupos treinados observamos o efeito da dieta sob a glicemia, onde mesmo submetidos ao exercício físico os animais do grupo Tre-HFD permaneceram mais intolerantes à glicose se comparados com os do grupo Tre-chow ( $p < 0,05$ ) (B). Ao compararmos os dois grupos alimentados com a dieta hiperlipídica observamos o efeito do exercício físico em melhorar os valores glicêmicos durante o teste em resposta à glicose, especificamente nos minutos 15, 30 e 60, para os animais do grupo Tre-HFD em relação ao Sed-HFD ( $p < 0,05$ ) (A), o que refletiu menor área sob a curva de glicose (B). No teste de tolerância à insulina, bem como na análise da área sob a curva do mesmo teste, não houve diferença estatística entre os grupos (C e D).

**Figura 10: Concentração plasmática de glicose e área sob a curva de ipGTT e ipITT**



Legenda: Concentração plasmática de glicose ipGTT (A), área sob a curva de ipGTT (B), concentração plasmática de glicose ipITT (C) e área sob a curva de ipITT (D) em camundongos Balb/c machos divididos em 4

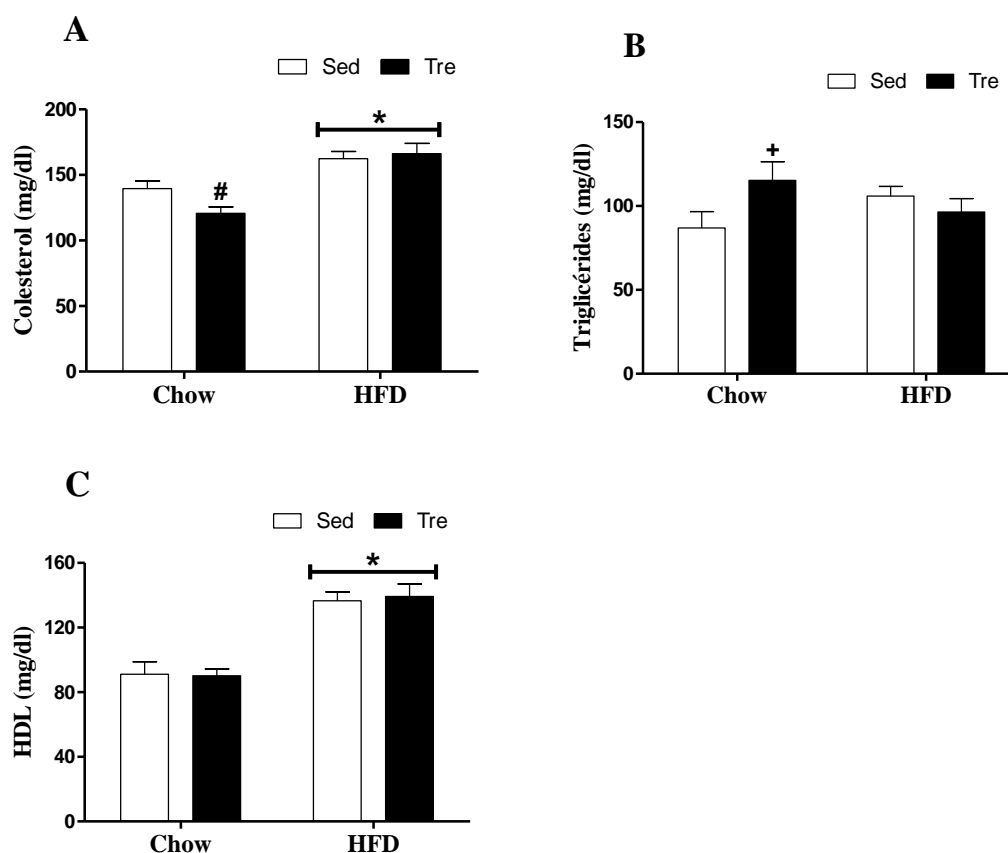


grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way* e de medidas repetidas, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \* $p<0,05$  HFD vs chow # $p<0,05$  efeito da dieta Tre-HFD vs Tre-chow, + $p<0,05$  efeito do exercício físico Sed-HFD vs Tre-HFD.

## 5.5 Perfil lipídico

A figura 11 mostra os resultados para colesterol total, triglicérides e HDL-colesterol. Com relação às concentrações de colesterol total (A) e HDL-colesterol (C), observou-se que os animais que se alimentaram da dieta hiperlipídica apresentaram maiores valores nestes parâmetros ( $p<0,05$ ) e o exercício físico não alterou esse aumento. Porém, para os alimentados com ração e treinados, os níveis de colesterol total foram menores se comparados com os sedentários. Para os triglicérides não houve efeito da dieta e o exercício físico aumentou os valores apenas para os animais alimentados com dieta padrão (B) ( $p<0,05$ ).

Figura 11: Colesterol total, triglicérides e HDL-colesterol



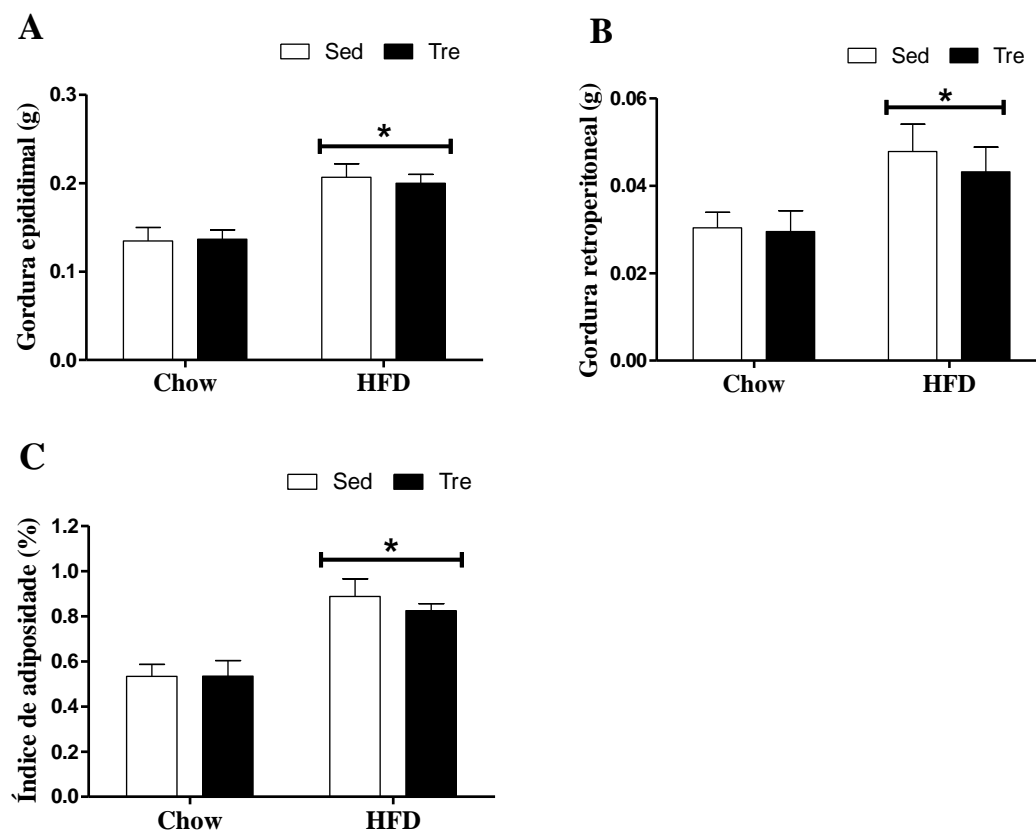
Legenda: colesterol total (A), triglicérides (B) e HDL-colesterol (C) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica)

(n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05 HFD vs chow, #p<0,05 Tre-chow vs Sed-chow e +p<0,05 vs Sed-chow.

## 5.6 Gorduras viscerais e índice de adiposidade

A figura 12 mostra os valores da massa das gorduras viscerais (epididimal – A, e retroperitoneal – B) e índice de adiposidade (C). Para todas as variáveis a dieta hiperlipídica aumentou os valores e o exercício físico não surtiu efeito.

Figura 12: Massa da gordura epididimal, retroperitoneal e índice de adiposidade



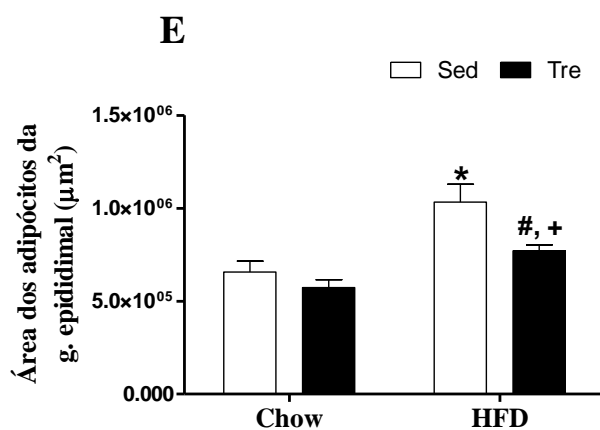
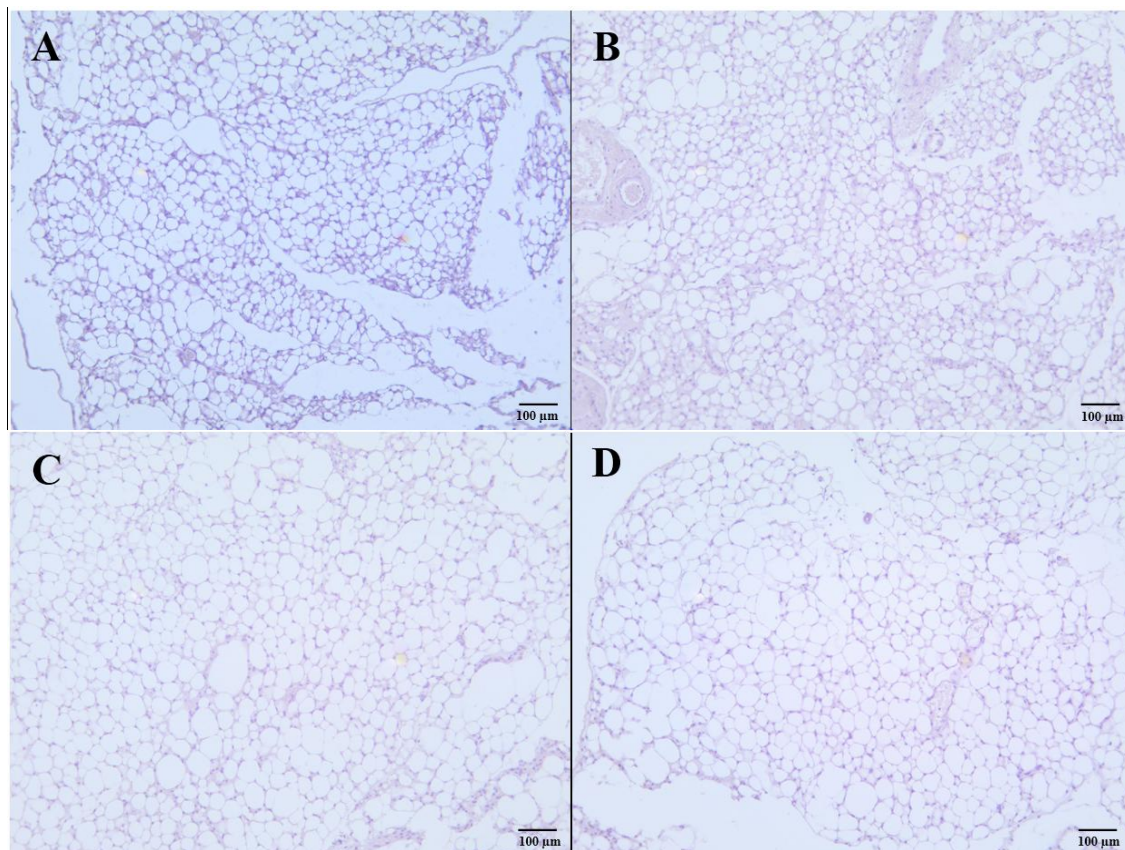
Legenda: Massa da gordura epididimal (A) e retroperitoneal (B), e índice de adiposidade (C) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05 HFD vs chow.

## 5.7 Hipertrofia dos adipócitos viscerais e infiltrado inflamatório

A figura 13 mostra a imagem representativa dos adipócitos epididimais de cada grupo experimental (Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D)) e a média da

área desses adipócitos (E). A dieta aumentou a área dos adipócitos epididimais e o exercício físico reverteu parcialmente esse aumento.

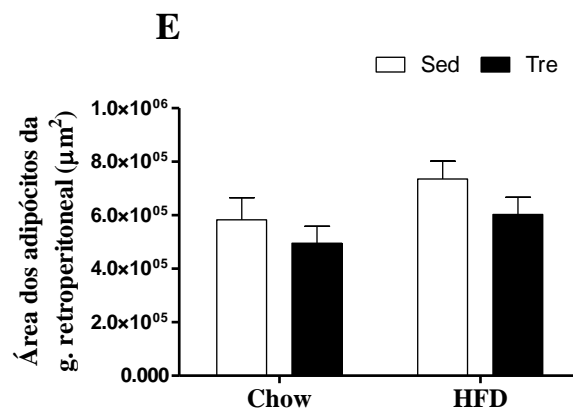
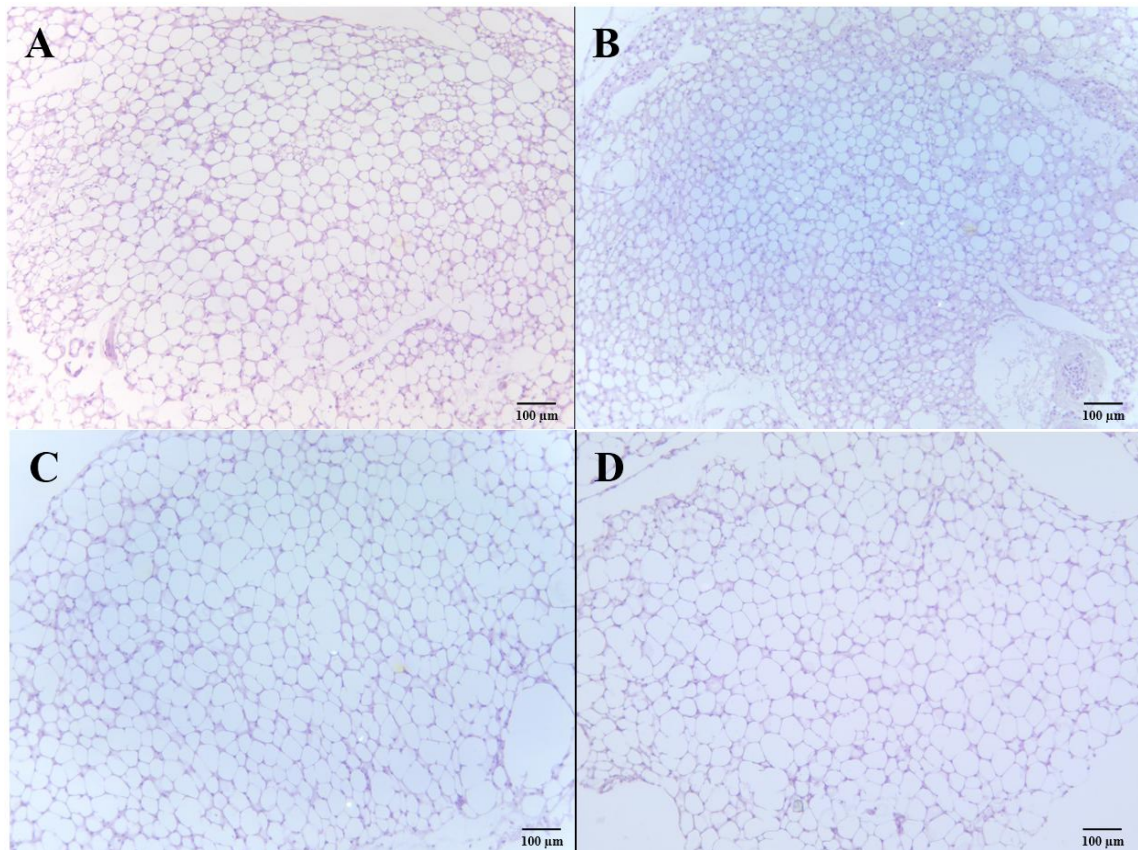
**Figura 13: Imagens e área dos adipócitos epididimais**



Legenda: Imagem dos adipócitos epididimais dos grupos Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D) e área dos adipócitos (E) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way, post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05 Sed-HFD vs demais grupos, #p<0,05 Tre-HFD vs Sed-HFD e +p<0,05 Tre-HFD vs Tre-chow.

A figura 14 mostra a imagem representativa dos adipócitos retroperitoneais (Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D)) e a média da área desses adipócitos (E). Não houve efeito da dieta ou do exercício físico sobre essa variável.

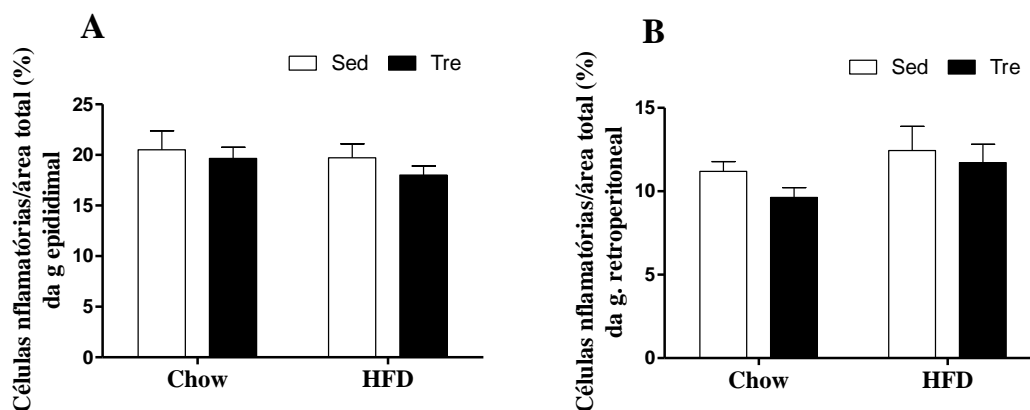
**Figura 14: Imagens e área dos adipócitos retroperitoneais**



Legenda: Imagem dos adipócitos retroperitoneais dos grupos Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D) e área dos adipócitos (E) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way, post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média ± desvio padrão.

A análise do infiltrado inflamatório das gorduras retroperitoneal e epididimal não revelou diferenças significativas entre os grupos (figura 15).

**Figura 15: Infiltrado inflamatório das gorduras epididimal e retroperitoneal**

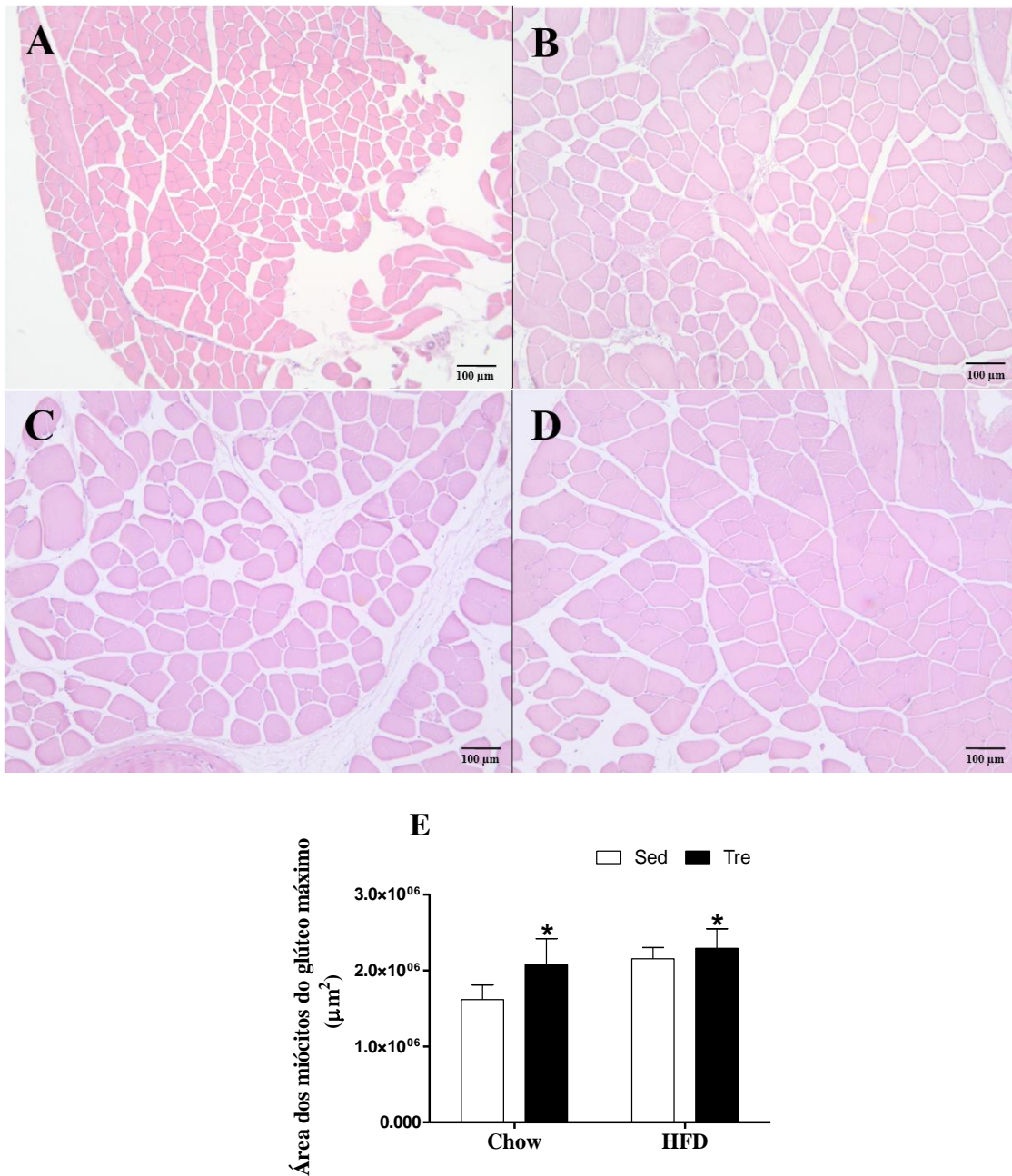


Legenda: infiltrado inflamatório das gorduras epididimal (A) e retroperitoneal (B) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

## 5.8 Hipertrofia dos músculos

Na figura 16 está a imagem representativa (Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D)) e a média da área dos miócitos (E) do músculo glúteo máximo. Foi observado que os animais dos grupos treinados apresentaram maiores valores que os grupos sedentários ( $p < 0,05$ ) independente da dieta.

**Figura 16: Imagem e área dos miócitos do músculo glúteo máximo**

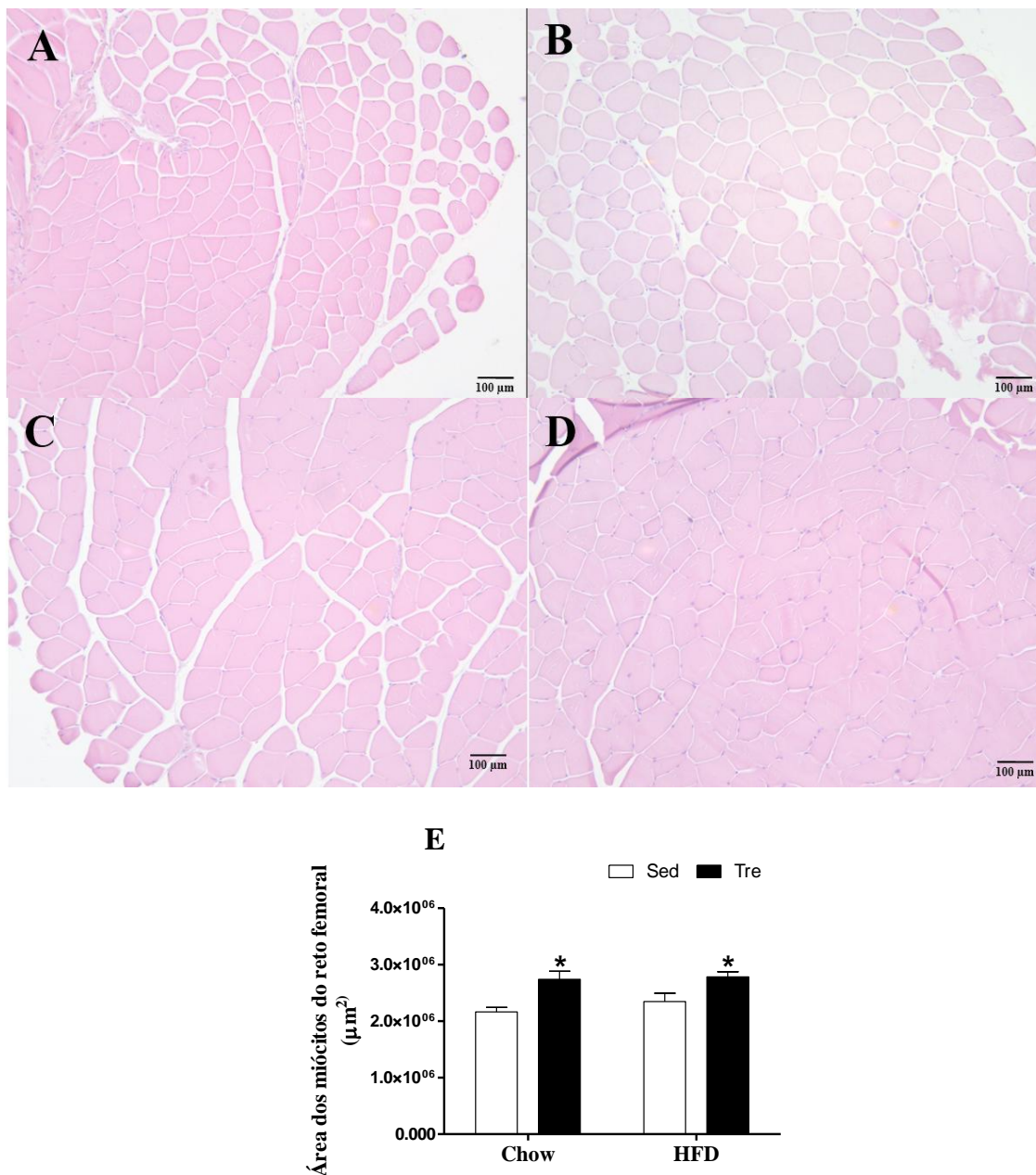


Legenda: imagem dos miócitos do músculo glúteo máximo dos grupos Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D) e área dos miócitos (E) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média ± desvio padrão. \*p<0,05 Tre vs Sed-chow.

Na figura 17 está a imagem representativa (Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D) e a média da área dos miócitos (E) do músculo reto femoral. Os

miócitos dos animais dos grupos treinados tiveram maior área se comparados com os sedentários independente da dieta ( $p < 0,05$ ).

**Figura 17: Imagem e área dos miócitos do músculo reto femoral**



Legenda: Imagem dos miócitos do músculo reto femoral dos grupos Sed-chow (A), Tre-chow (B), Sed-HFD (C), Tre-HFD (D) e área dos miócitos (E) de camundongos Balb/c machos divididos em 4 grupos: Sed-chow (sedentário alimentado com ração), Tre-chow (treinado alimentado com ração), Sed-HFD (sedentário alimentado com dieta hiperlipídica) e Tre-HFD (treinado alimentado com dieta hiperlipídica) (n=12/grupo, estatística por ANOVA *Two Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média ± desvio padrão. \* $p < 0,05$  Tre vs Sed.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada para camundongos alimentados com dieta hiperlipídica sobre parâmetros antropométricos, histológicos e bioquímicos que estão envolvidos em doenças metabólicas relacionada à obesidade. Os principais efeitos do exercício físico utilizado no modelo de dieta hiperlipídica foi que, apesar de não proporcionar diferenças significativas nas variáveis antropométricas, ele amenizou os efeitos da dieta hiperlipídica sobre a tolerância à glicose e a hipertrofia dos adipócitos epididimais. Estes resultados se aproximam de vários estudos, dentre eles Marinho *et al.* (2012) e Oliveira *et al.* (2016) que demonstram melhoras no metabolismo da glicose com a prática de exercícios físicos, sejam estes realizados de maneira aguda ou crônica, mesmo quando não ocorre redução da massa corporal.

A semelhança nos valores dos parâmetros antropométricos medidos entre os grupos revelam que as variáveis dieta e exercício físico não interferiram no crescimento dos animais. Além da medida naso-anal e o peso, o comprimento das tíbias esquerdas foi semelhante entre os animais que se alimentaram com dieta hiperlipídica e padrão, tanto para os sedentários como para os treinados. Ionova-Martin *et al.* (2010) observaram que uma dieta rica em gordura não altera o comprimento do osso femoral de camundongos C57BL/6, e explicam que em comparação com o osso dos camundongos que receberam uma dieta padrão é possível que o fêmur desses animais HFD tenha adquirido, ao invés de maior comprimento, maior conteúdo ósseo para sustentar o peso acumulado.

A menor ingestão alimentar absoluta nos grupos tratados com dieta hiperlipídica em comparação aos controles, e a semelhança na ingestão calórica entre os grupos, mostram um aspecto importante referente ao controle de consumo energético em camundongos: embora a dieta hiperlipídica apresentasse maior densidade calórica, os animais controlaram sua ingestão de acordo com as necessidades energéticas. Nosso grupo já havia observado esse fenômeno utilizando uma dieta com 60% das calorias provenientes de gordura e camundongos Swiss (SILVA *et al.*, 2018). Zaid *et al.* (2018) justificam o fato de camundongos Balb/c não se alimentarem de quantidades maiores da dieta hiperlipídica por conta da pouca variedade de itens alimentares, o que tornaria a dieta pouco palatável. Outro estudo que forneceu uma gama mais ampla de itens alimentares mostrou que ratos comeram refeições maiores do que os alimentados com ração durante todo o experimento e consequentemente ganharam mais peso corporal (MARTIRE *et al.*, 2013). Nosso grupo está



atualmente testando diferentes composições de dietas hiperlipídicas sobre a ingestão alimentar e ganho de massa corporal em camundongos Balb/c e os resultados mostram que quando ofertamos uma variedade maior de alimentos, os animais se tornam hiperfágicos e aumentam a massa corporal (pesquisa em andamento), o que corrobora os estudos citados.

Contrário ao que esperávamos, os camundongos do presente estudo não apresentaram aumento da massa corporal em resposta à dieta hiperlipídica. A literatura traz que camundongos Balb/c são considerados mais resistentes ao desenvolvimento da obesidade e resistência à insulina em resposta a uma dieta hiperlipídica (DUMAS *et al.*, 2006; NISHIKAWA *et al.*, 2007; MONTGOMEY *et al.*, 2013; WALLER-EVANS *et al.*, 2013). No entanto, a depender da idade de início da introdução da dieta, é possível observar aumento da massa corporal (YOSHIMURA, 2014; MONTGOMERY *et al.*, 2013; NISHIKAWA *et al.*, 2007). Embora o peso corporal dos camundongos de todos os grupos tenha permanecido semelhante, observamos que a massa gordurosa visceral e conseqüentemente o índice de adiposidade, aumentaram de forma significativa nos grupos HFD. Esse achado corrobora os de Waller-Evans *et al.* (2013) e confirma que a dieta induziu aumento da adiposidade camundongos, pois segundo Scoaris *et al.* (2010) o peso do tecido adiposo visceral também é um indicador da obesidade. Assim como no presente estudo, Higa *et al.* (2014) não observaram diferença no ganho de peso de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica durante 12 semanas, mas notaram aumento da gordura visceral e alterações no perfil lipídico. No que difere deste trabalho, Higa *et al.* (2014) utilizaram camundongos C57BL/6, que como já dito anteriormente, são mais suscetíveis à obesidade (COLLINS *et al.*, 2004) se comparados ao Balb/c. Montgomery *et al.* (2013) observaram aumento de cerca de 2 vezes na massa do tecido adiposo epididimal em camundongos balb/c alimentados com dieta hiperlipídica e Nishikawa *et al.* (2007) também descreveram aumento na massa total de gordura (subcutâneo e visceral) nessa mesma linhagem em resposta a dieta que oferecia 57,5% das calorias provenientes de gordura. Portanto, consideramos que a dieta utilizada no presente estudo foi eficaz em aumentar a adiposidade independentemente do aumento da massa corporal.

O protocolo de exercício de subida em escada utilizado no presente estudo foi eficaz em aumentar tanto a força muscular, medida pelo teste de 3RM, quanto a resistência muscular, medida pelo teste de resistência. Além disso, mostramos aumento na área dos miócitos do glúteo máximo e quadríceps, o que demonstra que o exercício físico também aumentou a hipertrofia muscular, dado este que condiz com muitos outros trabalhos com

roedores que obtiveram maior hipertrofia muscular em função do exercício físico (YARASHESKI *et al.*, 1990; RODRIGUES *et al.*, 2017; SON *et al.*, 2016; DUNCAN *et al.*, 1998). Estudando a resposta de camundongos Balb/c a um exercício de subida em escada, Ferraresi *et al.* (2014) também observaram aumento no desempenho no teste de 3RM, sendo esse o único estudo encontrado na literatura utilizando essa linhagem de camundongos e exercício de subida em escada. Nossos resultados são semelhantes aos de Roemers *et al.* (2018) que observaram que um exercício de corrida com resistência em camundongos induziu adaptações tanto de aumento de força e hipertrofia, quanto melhorou a resistência em teste em esteira e reduziu a gordura epididimal. Kim *et al.* (2015) também observaram melhorias nestes parâmetros com exercício de escalada em escada em camundongos C57BL/6 idosos, embora além da idade dos animais, o protocolo também diferia do nosso na duração e na carga do exercício, onde foi realizado um exercício físico mais prolongado, por 12 semanas, e com cargas menores, começando com 10% do peso corporal e progredindo 2 g a cada semana. É sabido que as adaptações fisiológicas ao exercício físico dependem do tipo de exercício ao qual o organismo é submetido (KNUTTGEN, 2007; EGAN; ZIERATH, 2013), portanto, o protocolo utilizado no presente estudo teve características tanto de um exercício resistido, quanto de resistência.

No que diz respeito ao efeito do exercício de subida em escada no peso corporal, os dados encontrados contradizem vários outros trabalhos realizados com camundongos, porém com outras linhagens e outros tipos de exercícios físicos (MARQUES *et al.*, 2010; EVANS *et al.*, 2014; RAO *et al.*, 2013; MARDARE *et al.*, 2016), mas se assemelha com o estudo de Scoaris *et al.* (2010) que não observaram influência do exercício físico em ratos Wistar nos grupos alimentados com uma dieta hiperlipídica combinada com exercício físico. A ausência de efeito do exercício sobre a massa das gorduras viscerais contradizem aos resultados encontrados por Roemers *et al.* (2018) que ao associarem um exercício de corrida aeróbico com resistência, observaram menor massa epididimal em camundongos C57Bl/6. No entanto, é importante destacar que embora a massa das gorduras viscerais não tenha sofrido alterações com o exercício físico no presente estudo, houve redução da área dos adipócitos epididimais nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica que foram submetidos ao exercício físico, o que demonstra que o protocolo utilizado nesse estudo exerceu efeitos positivos sobre esse parâmetro. Essa dissociação entre massa das gorduras e área dos adipócitos já foi observado pelo nosso grupo (SILVA *et al.*, 2018). A literatura sugere que o perfil pró-inflamatório no tecido adiposo, característico da obesidade, pode ser acompanhado

de aumento na circulação local e produção de edema, levando ao aumento no peso das gorduras (PETTERSON *et al.*, 2012), sem necessariamente alterar a área dos adipócitos.

Na análise do perfil lipídico, observamos que a dieta hiperlipídica proporcionou maiores valores de colesterol total e HDL-colesterol, como observado por outros autores (WALLER-EVANS *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014; DEMUNER *et al.*, 2015) e que o exercício físico não afetou essa resposta. Com relação aos triglicerídeos, a dieta não foi capaz de alterar essa variável, porém, observamos que apenas para o grupo Tre-chow houve aumento na concentração sérica de triglicerídeos. Esse resultado é inesperado e contrário aos efeitos esperados do exercício físico sobre triglicerídeos. No entanto, Frajacomo *et al.* (2011) observaram resultados semelhantes após exercício resistido de alta intensidade em hamsters alimentados com dieta rica em colesterol, também encontrando aumento na concentração sérica de triglicerídeos, sem alteração de HDL-colesterol e colesterol total. Não foram encontrados na literatura estudos que tenham investigado o efeito do exercício físico em camundongos balb/c alimentados com dieta hiperlipídica, o que sugere que mais estudos devam ser realizados para melhor entender como esses animais respondem a esses estímulos.

A dieta elevou os valores glicêmicos se comparados com os alimentados somente com ração independente do exercício físico e da ausência de diferença na massa corporal. Da mesma forma, o ipGTT revelou maiores valores de glicemia para o grupo HFD. Estes resultados condizem com outros trabalhos (FIEBIG *et al.*, 1998; CUNHA *et al.*, 2007; WALLER-EVANS *et al.*, 2013; HIGA *et al.*, 2014) que mesmo sem alterações no peso dos animais, porém com alterações na quantidade de gordura visceral, as dietas administradas promoveram alterações no metabolismo da glicose com maiores valores de glicemia. Não houve diferença em relação à inflamação do tecido adiposo, medida pelo infiltrado inflamatório no presente estudo. Portanto, outros fatores, independentemente do infiltrado inflamatório e da massa corporal, estão alterados nos animais alimentados com dieta hiperlipídica que explicam as diferenças no metabolismo de glicose, como, por exemplo, o maior acúmulo de gordura visceral.

O índice de adiposidade, a área dos adipócitos epididimais, a glicemia em jejum e a intolerância à glicose foram maiores para os grupos HFD. Existem evidências consideráveis indicando que o acúmulo excessivo de tecido adiposo branco está fortemente correlacionado com o desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes tipo 2 (HIGA *et al.*, 2014). Nos animais alimentados com dieta hiperlipídica, o exercício de subida em escada melhorou a área dos adipócitos epididimais e a tolerância à glicose observada através de menor área sob a

curva do teste. Esses dados se assemelham aos encontrados por autores que treinaram C57BL/6J com exercício de corrida (EVANS *et al.*, 2014; RAO *et al.*, 2013; MARDARE *et al.*, 2016) e outros que realizaram exercício resistido por escalada com ratos (SPERETTA *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2017; SON *et al.*, 2016), no entanto, o único trabalho que encontramos de exercício de subida em escada com camundongos Balb/c não avaliou estes parâmetros (FERRARESI *et al.*, 2014). Além disso, vale ressaltar a importância do protocolo utilizado na melhora da tolerância à glicose observada independente da alteração do peso corporal. Estudos em roedores e em seres humanos revelaram que o exercício físico pode reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, melhorar a sensibilidade à insulina, melhorar a tolerância à glicose e diminuir a glicemia sanguínea independente da alteração do peso corporal (PAULI *et al.*, 2009; CIOLAC; GUIMARÃES, 2004; GOMES *et al.*, 2005; MARINHO *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.* 2016).

## **7 CONCLUSÃO**

Concluimos que o protocolo de exercício de subida em escada testado em camundongos Balb/c alimentados com dieta hiperlipídica melhorou a tolerância à glicose e diminuiu a área dos adipócitos epididimais, apesar de não promover alteração nos lipídeos sanguíneos alterados pela dieta.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFABLE, A.; KARINGULA, N. S. Evidence based review of type 2 diabetes prevention and management in low and middle income countries. *World J Diabetes*; 7(10): 209–229, 2016.

ALLISON, M. K.; BAGLOLE, J. H.; MARTIN, B. J.; MACINNIS, M. J.; GURD, B. J.; GIBALA, M. J. Brief Intense Stair Climbing Improves Cardiorespiratory Fitness. *Medicine & Science In Sports & Exercise*, 0195-9131/17/4902-0298/0, 2016.

ARAÚJO, G. G.; PAPOTI, M.; MANCHADO-GOBATTO, F. B.; MELLO, M. A. R.; GOBATTO, C. A. Standardization of an Experimental Periodized Training Protocol in Swimming Rats. *Rev Bras Med Esporte – Vol. 16, No 1 – Jan/Fev, 2010*.

ARORA, E.; SHENOY, S.; SANDHU, J. S. Effects of resistance training on metabolic profile of adults with type 2 diabetes. *Indian J Med Res* 129, pp 515-519, May 2009.

AUNE, D.; NORAT, T.; LEITZMANN, M.; TONSTAD, S.; VATTEN, L. J. Physical activity and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Eur J Epidemiol*, 30:529–542, DOI 10.1007/s10654-015-0056-z, 2015.

BAZARGANI, Y. T.; BOER, A.; LEUFKENS, H. G. M.; MANTEL-TEEUWISSE, A. K. Selection of Essential Medicines for Diabetes in Low and Middle Income Countries: A Survey of 32 National Essential Medicines Lists. *PLOS ONE* 9(9): e106072, 2014.

BITTENCOURT, N. *Musculação. Uma abordagem metodológica*. Sprint, 2. ed. Rio de Janeiro, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. *Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.*

BRETHAUER, S. A.; AMINIAN, A.; ROMERO-TALAMÁS, H.; BATAYYAH, E.; MACKAY, J.; KENNEDY, L.; KASHYAP, S. R.; KIRWAN, J. P.; ROGULA, T.; KROH, M.; CHAND, B.; SCHAUER, P. R.; Can Diabetes Be Surgically Cured? Long-Term

Metabolic Effects of Bariatric Surgery in Obese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Ann Surg.*; 258(4): 628–637, 2013.

BOULÉ, N. G.; KENNY, G. P.; HADDAD, E.; WELLS, G. A.; SIGAL, R. J. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, volume 46, issue 8, pp 1071–108, August 2003.

CARUSO, F. C. R.; PADOVANI, C.; DEUS, A. P. L.; ROSSI, B. R. O.; CANCELLIERO, K. M.; SILVA, C. A.; BORGHI-SILVA, A. Efeitos do treinamento de força sobre a função pancreática e a sensibilidade tecidual à insulina em ratos. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 14, n. 3, p. 225-230, set./dez. 2010.

CASSILHAS, R. C.; LEE, K. S.; FERNANDES, J.; OLIVEIRA, M. G. M.; TUFIK, S.; MEEUSEN, R.; DE MELLO, M. T. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience*, Volume 202, 27, Pages 309-317, January 2012 a.

CASSILHAS, R. C.; LEE, K. S.; VENÂNCIO, D. P.; OLIVEIRA, M. G. M.; TUFIK, S.; DE MELLO, M. T. Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Braz J Med Biol Res*, Volume 45(12) 1215-1220, December 2012 b.

CAUZA, E.; HANUSCH-ENSERE, U.; STRASSER, B.; LUDVIK, B.; METZ-SCHIMMERL, S.; PACINI, G.; WAGNER, O; GEORG, P.; PRAGER, R.; KOSTNER, K.; DUNKY, A.; HABER, P. The Relative Benefits of Endurance and Strength Training on the Metabolic Factors and Muscle Function of People With Type 2 Diabetes Mellitus. *Arch Phys Med Rehabil Vol 86*, August 2005.

COLBERG, S. R.; SIGAL, R. J.; FERNHALL, B.; REGENSTEINER, J. G.; BLISSMER, B. J.; RUBIN, R. R.; CHASAN-TABER, L.; ALBRIGHT, A. L.; BRAUN, B. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes Care*, Dec;33(12):e147-67, 2010.

COSTA-JÚNIOR, J. M.; FERREIRA, S. M.; PROTZEK, A. O.; SANTOS, G. J.; CAPPELLI, A. P.; SILVEIRA, L. R.; ZOPPI, C.; OLIVEIRA, C. A. M.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO, E. M.; REZENDE, L. F. Endurance Training Inhibits Insulin Clearance and IDE Expression in Swiss Mice. *PLoS ONE* 10(3): e0118809. doi:10.1371/journal.pone.0118809, 2015.

CUNHA, T. S.; FARAH, V.; PAULINI, J.; PAZZINE, M.; ELASED, K. M.; MARCONDES, F. K.; IRIGOYEN, M. C.; DE ANGELIS, K.; MIRKIN, L. D.; MORRIS, M. Relationship

between renal and cardiovascular changes in a murine model of glucose intolerance. *Regul Pept.* 139:1–4, 2007.

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte*, Vol. 10, Nº 4 – Jul/Ago, 2004.

COLLINS, S.; MARTIN, T. L.; SURWIT, R. S.; ROBIDOUX, J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav.*;81:243–248, 2004.

DAVIDSON, L. E.; HUDSON, R.; KILPATRICK, K.; KUK, J. L.; MCMILLAN, K.; JANISZEWSKI, P. M.; LEE, S.; LAM, M.; ROSS, R. Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults: a randomized controlled trial. *Arch. Intern. Med.* 169, 122–131, 2009.

DEMUNER, B. L.; PINHO, G. Z.; THOMAZ, J. C.; STEGMILLER, N. P.; MENDES, R. M. A.; PAULO, M. S. L.; PAULO, D. N. S. Effect of total splenectomy in the lipid profile in mice. *Acta Cir. Bras.* vol.30 no.5 São Paulo May 2015.

DHAR, M. S.; SOMMARDAHL, C. S.; KIRKLAND, T.; NELSON, S.; DONNELL, R.; JOHNSON, D. K.; CASTELLANI, L. W. Mice Heterozygous for *Atp10c*, a Putative Amphipath, Represent a Novel Model of Obesity and Type 2 Diabetes. *J. Nutr.* 134 (4) 799–805, 2004.

DUMAS, M.-E.; BARTON, R. H.; TOYE, A.; CLOAREC, O.; BLANCHER, C.; ROTHWELL, A.; FEARNSIDE, J.; TATOUD, R.; BLANC, V.; LINDON, J. C.; MITCHELL, S. C.; HOLMES, E.; MCCARTHY, M. I.; SCOTT, J.; GAUGUIER, D.; NICHOLSON, J. K. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:12511–12516, 2006.

DUNCAN, N. D.; WILLIAMS, D. A.; LYNCH, G. S. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Volume 77, Issue 4, pp 372–378, March 1998.

EGAN, B.; ZIERATH, J. R. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metabolism* 17, February 5, 2013.

EVANS, C. C.; LEPARD, K. J.; KWAK, J. W.; STANCUKAS, M. C.; LASKOWSKI, S.; DOUGHERTY, J.; MOULTON, L.; GLAWE, A.; WANG, Y.; LEONE, V.; ANTONOPOULOS, D. A.; SMITH, D.; CHANG, E. B.; CIANCIO, M. J. Exercise Prevents



Weight Gain and Alters the Gut Microbiota in a Mouse Model of High Fat Diet-Induced Obesity. *PLOS ONE*, Volume 9, Issue 3, March 2014.

FARIAS, J. M.; BOM, K. F.; TROMM, C. B.; LUCIANO, T. F.; MARQUES, S. O.; TUON, T.; SILVA, L. A.; LIRA, F. S.; SOUZA, C. T.; PINHO, R. A. Effect of Physical Training on the Adipose Tissue of Diet-induced Obesity Mice: Interaction Between Reactive Oxygen Species and Lipolysis. *Horm Metab Res*; 45: 190–196, 2013.

FERRARESI, C.; PARIZOTTO, N. A.; PIRES DE SOUSA, M. V.; KAIPPERT, B.; HUANG, Y. Y.; KOISO, T.; BAGNATO, V. S.; HAMBLIN, M. R. Light-emitting diode therapy in exercise-trained mice increases muscle performance, cytochrome c oxidase activity, ATP and cell proliferation. *J Biophotonics*, 8(9):740-54, Sep 2014.

FIEBIG, R.; GRIFFITHS, M. A.; GORE, M. T.; BAKER, D. H.; OSCAI, L.; NEY, D. M.; JI, L. L. Exercise training down-regulates hepatic lipogenic enzymes in meal-fed rats: fructose versus complex-carbohydrate diets. *J Nutr.* 128:810–817, 1998.

FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. *Fundamentos do Treinamento de Força Muscular*. Artmed 4<sup>a</sup> Ed. 2017.

FRAJACOMO, F. T. T.; DEMARZO, M. M. P.; FERNANDES, C. R.; MARTINELLO, F.; BACHUR, J. A.; UYEMURA, S. A.; PEREZ, S. E. A.; GARCIA, S. B. The effects of high-intensity resistance exercise on the blood lipid profile and liver function in hypercholesterolemic hamsters. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 37: 448–454, 2012.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. *Rev Bras Med Esporte*, Vol. 11, Nº 5 – Set/Out, 2005.

HEYDEMANN, A. An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*, Article ID 2902351, 14 pages, Volume 2016.

HIGA, T. S.; SPINOLA, A. V.; FONSECA-ALANIZ, M. H.; EVANGELISTA, F. S. Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 6(1): 47–54, 2014.

IONOVA-MARTIN, S. S.; DO, S. H.; BARTH, H. D.; SZADKOWSKA, M.; PORTER, A. E.; AGER, J. W.; AGER JR, J. W.; ALLISTON, T.; VAÏSSE, C.; RITCHIE, R. O. Reduced size-independent mechanical properties of cortical bone in high-fat diet-induced obesity. *Bone*, Volume 46, Issue 1, Pages 217-225, January 2010.

KIM, H. J.; SO, B.; CHOI, M.; KANG, D.; CANÇÃO, W. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. *Exp Gerontol.* 70:11-7. doi: 10.1016/j.exger.2015.07.006, 2015.

KNUTTGEN, H. G. Strength training and aerobic exercise: comparison and contrast. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 21(3), 973–978, 2007.

MANN, S.; BEEDIE, C.; JIMENEZ, A. Differential Effects of Aerobic Exercise, Resistance Training and Combined Exercise Modalities on Cholesterol and the Lipid Profile: Review, Synthesis and Recommendations. *Sports Med*, 44:211–221, 2014.

MARDARE, C.; KRÜGER, K.; LIEBISCH, G.; SEIMETZ, M.; COUTURIER, A.; RINGSEIS, R.; WILHELM, J.; WEISSMANN, N.; EDER, K.; MOOREN, F.-C. Endurance and resistance training affect high fat diet-induced increase of ceramides, inflammasome expression, and systemic inflammation in mice. *Journal of Diabetes Research*, Article ID 4536470, 13 pages Volume 2016.

MARQUES, C. M. M.; MOTTA, V. F.; TORRES, T. S.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Beneficial effects of exercise training (treadmill) on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in high-fat fed C57BL/6 mice. *Braz J Med Biol Res*, Volume 43(5) 467-475, May 2010.

MARINHO, R.; ROPELLE, E. R.; CINTRA, D. E.; DE SOUZA, C. T.; DA SILVA, A. S.; BERTOLI, F. C.; COLANTÔNIO, E.; D'ALMEIDA, V.; PAULI, J. R. Endurance exercise training increases APPL1 expression and improves insulin signaling in the hepatic tissue of diet-induced obese mice, independently of weight loss. *J Cell Physiol.*;227(7):2917-26. doi: 10.1002/jcp.23037, Jul., 2012.

MARTIRE, S. I.; HOLMES, N.; WESTBROOK, R. F.; MORRIS, M. J. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One*, 8(4): p. e60407, 2013.

MEO, S. D.; IOSSA, S.; VENDITTI, P. Improvement of obesity-linked skeletal muscle insulin resistance by strength and endurance training. *J Endocrinol* 234 R159-R181, September 1, 2017.

MONTGOMERY, M. K.; HALLAHAN, N. L.; BROWN, S. H.; LIU, M.; MITCHELL, T. W.; COONEY, G. J.; TURNER, N. Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. *Diabetologia*, 56:1129–1139, 2013.

MORI, T.; OKIMOTO, N.; SAKAI, A.; OKAZAKI, Y.; NAKURA, N.; NOTOMI, T.; NAKAMURA, T. Climbing Exercise Increases Bone Mass and Trabecular Bone Turnover Through Transient Regulation of Marrow Osteogenic and Osteoclastogenic Potentials in Mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, Volume 18, Number 11, 2003.

MORTON, N. M.; HOLMES, M. C.; FIÉVET, C.; STAELS, B.; TAILLEUX, A.; MULLINS, J. J.; SECKL, J. R. Improved lipid and lipoprotein profile, hepatic insulin sensitivity, and glucose tolerance in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 null mice. *J Biol Chem*, v. 276, n. 44, p. 41293-300. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking), Nov 2 2001.

NETO, W. K.; SILVA, W. A.; CIENA, A. P.; ANARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Vertical Climbing for Rodent Resistance Training: a Discussion about Training Parameters. *International Journal of Sports Science*, 6(1A): 36-49, 2016.

NISHIKAWA, S.; YASOSHIMA, A.; DOI, K.; NAKAYAMA, H.; UETSUKA, K. Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet-induced obesity in C57BL/6J and BALB/c mice. *Exp. Anim.* 56(4), 263-272, 2007.

OLIVEIRA, A. G.; CARVALHO, B. M.; TOBAR, N.; ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; BAGAROLLI, R. A.; GUADAGNINI, D.; CARVALHEIRA, J. B. C.; SAAD, M. J. A. Physical Exercise Reduces Circulating Lipopolysaccharide and TLR4 Activation and Improves Insulin Signaling in Tissues of DIO Rats. *Diabetes*. 65(4): 1124, April; 2016.

ORTEGA, F. B.; LAVIE, C. J.; BLAIR, S. N. Obesity and Cardiovascular Disease. *Circulation Research*; 118: 1752-1770, 2016.

PAULI, J. R.; CINTRA, D. E.; SOUZA, C. T.; ROPELLE, E. R. New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle. *Arq Bras Endocrinol Metab* vol.53 no.4 São Paulo June 2009.

PEIXINHO-PENA, L. F.; FERNANDES, J.; ALMEIDA, A. A.; GOMES, F. G. N.; CASSILHAS, R.; VENANCIO, D. P.; MELLO, M. T.; SCORZA, F. A.; CAVALHEIRO, E. A.; ARIDA, R. M. A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. *Epilepsy & Behavior*, Volume 25, Issue 3, Pages 323-328, November 2012.

PETTERSSON, U. S.; Waldén, T. B.; Carlsson, P-O.; Jansson, L.; Phillipson, M. Female mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome and increase the regulatory T cell population in adipose tissue. *PLoS One*, v. 7, n. 9, p. e46057, ISSN 1932-6203, 2012.

PUZZIFERRI, N.; ROSHEK, T. B.; MAYO, H. G.; GALLAGHER, R.; BELLE, S. H.; LIVINGSTON, E. H. Long-term follow-up after bariatric surgery a systematic review. *Clinical Review& Education, JAMA*, volume 312, number 9, 312(9):934-942, 2014.

RAO, X.; ZHONG, J.; XU, X.; JORDAN, B.; MAURYA, S.; BRAUNSTEIN, Z.; WANG, T-Y.; HUANG, W.; AGGARWAL, S.; PERIASAMY, M.; RAJAGOPALAN, S.; MEHTA, K.; SUN, Q. Exercise Protects against Diet-Induced Insulin Resistance through Downregulation of Protein Kinase C $\beta$  in Mice. *PLOS ONE*, Volume 8, Issue 1, December 2013.

RODRIGUES, M. D.; BORIN, S. H.; SILVA, C. A. Metabolic relations in rats under the ladder in anaerobic. *Rev. Bras. Ciênc. Esporte* vol.39 no.1 Porto Alegre Mar. 2017.

ROEMERS, P.; MAZZOLA, P. N.; DE DEYN, P. P.; BOSSERS, W. J.; VAN HEUVELEN, M. J. G.; VAN DER ZEE, E. A. Burrowing as a novel voluntary strength training method for mice: A comparison of various voluntary strength or resistance exercise methods. *Journal of Neuroscience Methods*, Volume 300, Pages 112-126, 15 April 2018.

SCOARIS, C. R.; RIZO, G. V.; ROLDI, L. P.; MORAES, S. M. F.; PROENÇA, A. R. G.; PERALTA, R. M.; NATALI, M. R. M. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. *Nutrition* 26, 312–320, 2010.

SILVA, G.; FERRARESI, C.; ALMEIDA, R. T.; MOTTA, M. L.; PAIXÃO, T.; OTTONE, V. O.; FONSECA, I. A.; OLIVEIRA, M. X.; ROCHA-VIEIRA, E.; DIAS-PEIXOTO, M. F.; ESTEVES, E. A.; COIMBRA, C. C.; AMORIM, F. T.; CASTRO MAGALHÃES, F. Infrared photobiomodulation (PBM) therapy improves glucose metabolism and intracellular insulin pathway in adipose tissue of high-fat fed mice *Lasers in medical science* 33:559-571 doi:10.1007/s10103-017-2408-2, 2018.

SIGAL, R. J.; KENNY, G. P.; BOULE, N. G.; WELLS, G. A.; PRUD'HOMME, D.; FORTIER, M.; REID, R. D.; TULLOCH, H.; COYLE, D.; PHILLIPS, P.; *et al.* Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 147, 357–369, 2007.

SIGAL, R. J.; ARMSTRONG, M. J.; COLBY, P.; KENNY, G. P.; PLOTNIKOFF, R. C.; REICHERT, S. M.; RIDDELL, M. C. Physical Activity and Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes* 37 S40eS44, 2013.

SON, J. S.; KIM, J. H.; KIM, H-J.; YOON, D. H.; KIM, J-S.; SONG, H. S.; SONG, W. Effect of resistance ladder training on sparc expression in skeletal muscle of hindlimb immobilized rats. *Muscle & nerve*, Volume 53, Issue 6, Pages 951–957, June 2016.

SPERETTA, G. F.; SILVA, A. A.; VENDRAMINI, R. C.; ZANESCOC, A.; DELBIN, M. A.; MENANI, J. V.; BASSI, M.; COLOMBARI, E.; COLOMBARI, D. S. A. Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. *Life Sciences* 146, 154–162, 2016.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genomics*, v. 34, n. 3, p. 389-98. ISSN 0888-7543 (Print) 0888-7543 (Linking), Jun 15 1996.

WALLER-EVANS, H.; HUE, C.; FEARNside, J.; ROTHWELL, A. R.; LOCKSTONE, H. E.; CALDÉRARI, S.; WILDER, S. P.; CAZIER, J.-B.; SCOTT, J.; GAUGUIER, D. Nutrigenomics of High Fat Diet Induced Obesity in Mice Suggests Relationships between Susceptibility to Fatty Liver Disease and the Proteasome. *PLoS ONE* 8(12): e82825, 2013.

WANG, C-Y.; LIAO, J. K. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Methods Mol Biol.* 821: 421–433. doi:10.1007/978-1-61779-430-8\_27. 2012.

WANG, L.; WANG, Y.; LIANG, Y.; LI, J.; LIU, Y.; ZHANG, J.; ZHANG, A.; FU, J.; JIANG, G. PFOS induced lipid metabolism disturbances in BALB/c mice through inhibition of low density lipoproteins excretion. *Scientific Reports* volume 4, Article number: 4582, 2014.

YANG, Z.; SCOTT, C. A.; MAO, C.; TANG, J.; FARMER, A. J. Resistance Exercise Versus Aerobic Exercise for Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med* DOI 10.1007/s40279-013-0128-8, Springer International Publishing Switzerland, 2013.

YARASHESKI, K. E.; LEMON, P. W. R.; GILLOTEAUX, J. Effect of heavy-resistance exercise training on muscle fiber composition in young rats. *J Appl Physiol* 69(2): 434-437, 1990.

YOSHIMURA, T. M. Luz de baixa potência como proposta terapêutica à síndrome metabólica em modelo animal. Dissertação de mestrado São Paulo 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-09042015-143109/en.php>> acesso em 18 de out, 2017.

YOSHIMURA, T. M.; SABINO, C. P.; RIBEIRO, M. S. Photobiomodulation reduces abdominal adipose tissue inflammatory infiltrate of diet-induced obese and hyperglycemic mice. *Journal of Biophotonics*, Volume9, Issue11-12, Pages 1255-1262, 2016.

ZAID, M.; AMEER, F.; ALI, A.; SHOUKAT, Z.; RASHID, R.; IQBAL, I.; ZAIDI, N. Comparing the metabolic fates of BALB/c mice maintained on cafeteria-style diets with differential nutritive values. *BioRxiv* preprint first posted online Aug. 14, 2018.

## ANEXO A - PADRONIZAÇÃO DE DIETA HIPERLIPÍDICA

A tabela 1 a seguir mostra a composição de dois tipos de dietas testadas, que possuíam os mesmos ingredientes porém em proporções diferentes.

**Tabela 1 – Composição das dietas experimentais (adaptadas de YOSHIMURA, 2014) e ração padrão.**

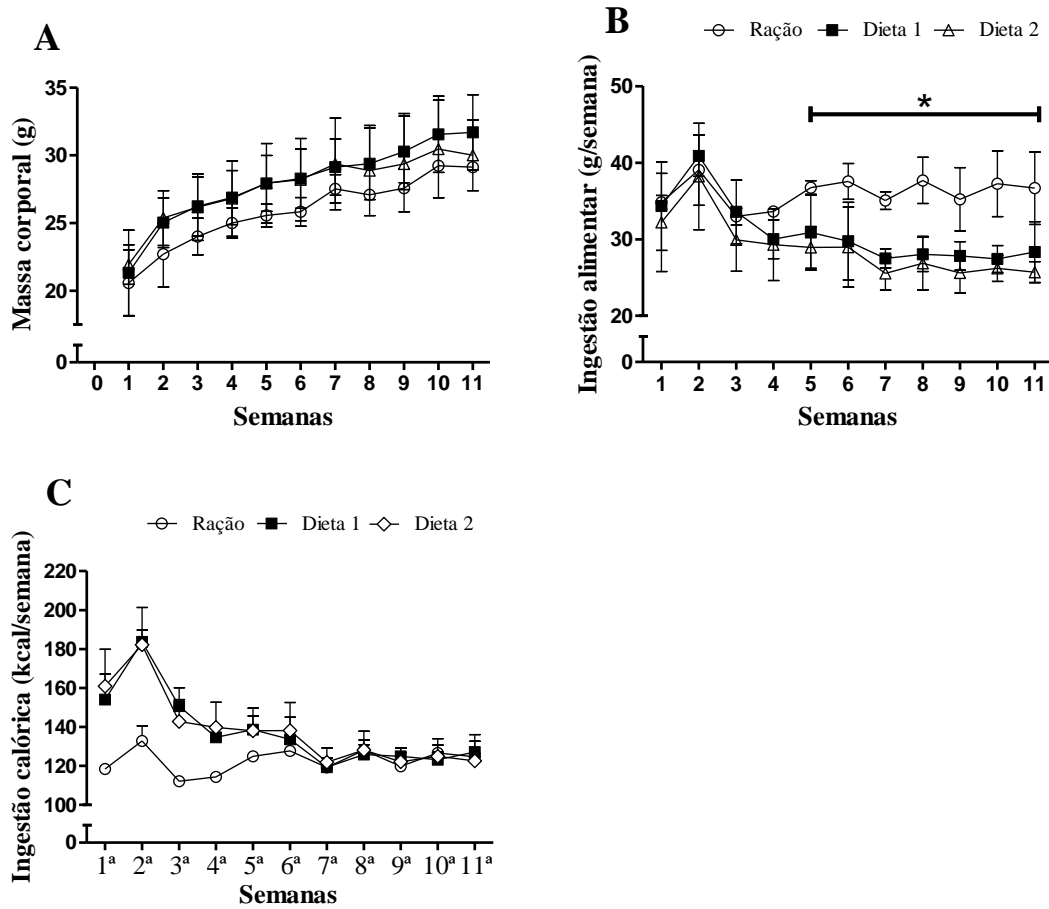
<b>Composição</b>	<b>Dieta 1</b>	<b>Dieta 2</b>	<b>Ração (Nuvilab, Quimtia)</b>
<b>Ração</b>	200 g	200 g	Milho integral moído, farelo de soja, farelo
<b>Banha de porco</b>	200 g	250 g	de trigo, carbonato de cálcio, fosfato
<b>Xarope de milho</b>	100 g	100 g	bicálcico, cloreto de sódio, óleo vegetal,
<b>Leite em pó desnatado</b>	500 g	450 g	vitamina a, vitamina d3, vitamina e, vitamina k3, vitamina b1, vitamina b2,
Total	1 kg	1 kg	vitamina b6, vitamina b12, niacina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, sulfato de ferro, monóxido de manganês, óxido de zinco, sulfato de cobre, iodato de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, lisina, metionina, bht.

<b>Nutrientes</b>	<b>% de calorias</b>		
	<b>Dieta 1</b>	<b>Dieta 2</b>	<b>Ração</b>
Carboidrato	39	34,6	63,4
Proteína	19	16,7	25,9
Gordura	42	48,7	10,6
<b>% calorias vs ração</b>	132	140	

A figura 1 mostra que não houve diferença estatística entre os grupos quanto à massa corporal dos animais ao longo de todo o período (A). Os animais que receberam a dieta 1 e 2 apresentaram menor ingestão alimentar que o grupo controle alimentados com ração padrão ( $p < 0,05$ ) a partir da quinta semana experimental (B), no entanto a ingestão calórica foi a mesma a partir do mesmo período.

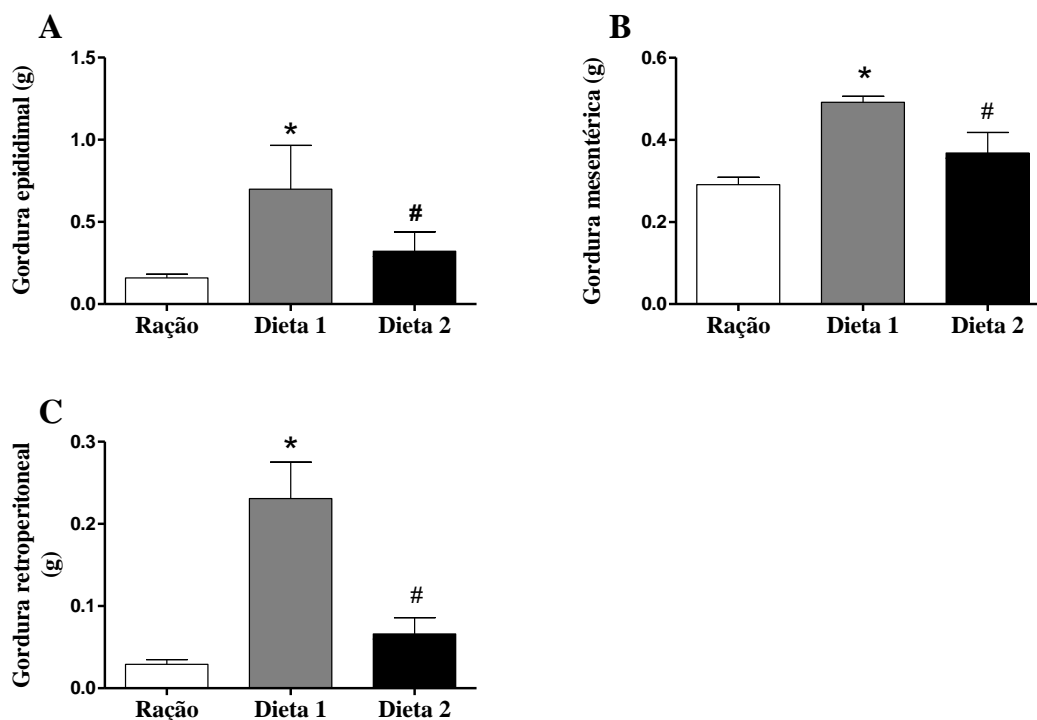
Figura 1: Evolução da massa corporal, ingestão alimentar e ingestão calórica



Legenda: Evolução da massa corporal (A), ingestão alimentar (B) e ingestão calórica (C) em camundongos Balb/c machos jovens alimentados com dietas modificadas e ração durante 11 semanas (n=3/grupo, estatística por ANOVA *One Way* de medidas repetidas, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05 diferença de ingestão alimentar.

Apesar de não haver diferença na massa corporal dos animais, os gráficos da figura 2 mostram que houve maior acúmulo de gordura epididimal (A), mesentérica (B) e retroperitoneal (C) nos animais alimentados com a dieta 1 se comparados com o grupo ração (p<0,05) e com a dieta 2 (p<0,05). Não houve diferença da dieta 2 com o controle para nenhuma das gorduras.



**Figura 2: Massa das gorduras epididimal, mesentérica, e retroperitoneal**

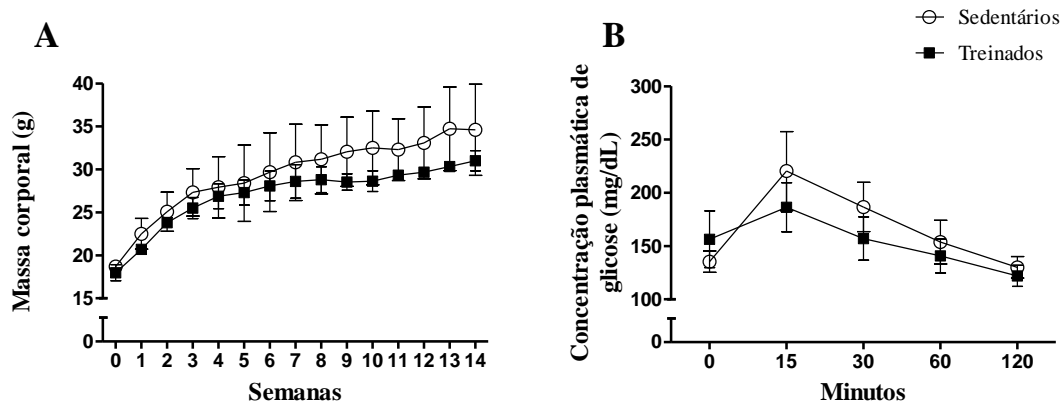
Legenda: Massa das gorduras epididimal (A), mesentérica (B), e retroperitoneal (C) de camundongos Balb/c machos alimentados com dietas modificadas e ração durante 11 semanas (n=3/grupo, estatística por ANOVA *One Way*, *post-hoc* de Fisher LSD). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05 dieta 1 vs ração, #p<0,05 dieta 1 vs dieta 2.

Desta forma, considerando o maior acúmulo de gorduras nos animais alimentados com a dieta 1 concluímos que esta seria mais adequada para desenvolver alterações causadas pela dieta hiperlipídica em modelo de camundongos Balb/c.

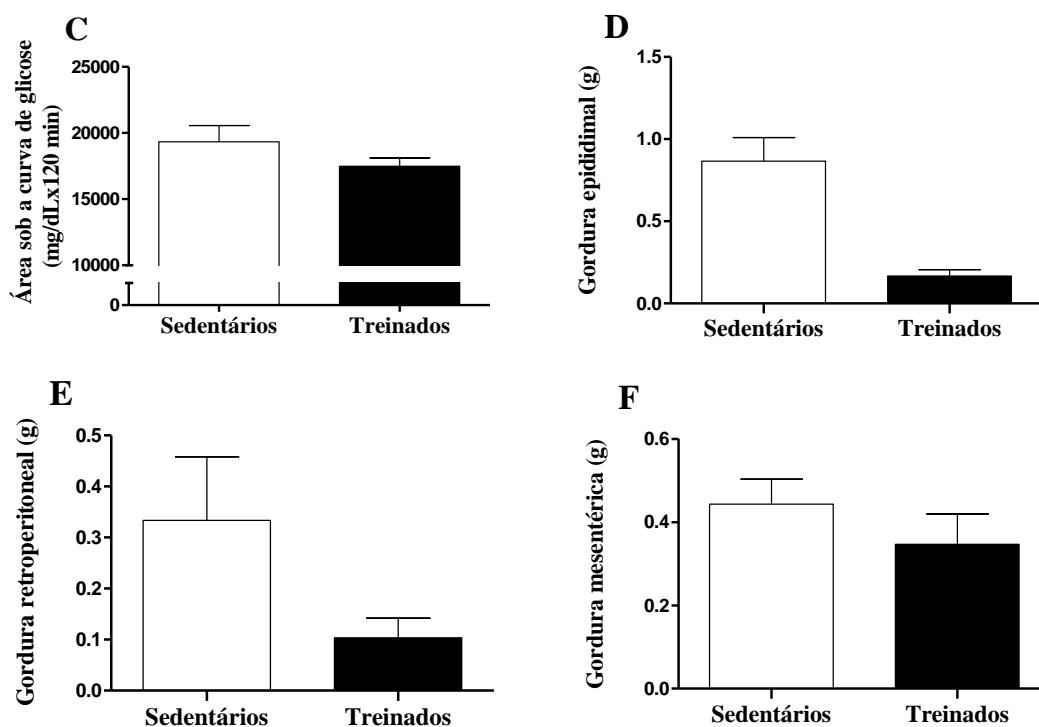
## ANEXO B - PADRONIZAÇÃO DE EXERCÍCIO DE SUBIDA EM ESCADA

Camundongos Balb/c machos alimentados com dieta hiperlipídica, foram submetidos a um exercício em escada vertical adaptada para camundongos (figura 1). O protocolo realizado consistiu em 6 séries de 12 subidas, 3 vezes por semana, durante 6 semanas, no qual os animais subiram com peso fixado na cauda. A carga foi aumentada progressivamente iniciando com 50% do peso alcançado em teste de três repetições máximas, aumentando 10% a cada semana.

A figura 1 mostra clara tendência à melhora na tolerância à glicose (B) no teste de tolerância intraperitoneal de glicose (ipGTT), bem como na área sob a curva do teste (C), embora o efeito sobre a massa corporal (A) tenha sido tênue. Além disso, observa-se nítida redução na massa das gorduras epididimal (D) e retroperitoneal (E) em resposta ao treino e efeito menos óbvio sobre a gordura mesentérica (F).



**Figura 1: Evolução da massa corporal, concentração plasmática de glicose e área sob a curva em ipGTT, massa das gorduras epididimal, mesentérica e retroperitoneal**



Legenda: Evolução da massa corporal (A), concentração plasmática de glicose (B) e área sob a curva (C) em ipGTT, massa das gorduras epididimal (D), mesentérica (E) e retroperitoneal (F) de camundongos Balb/c machos divididos em grupos sedentário e treinado em escada a partir da 6ª semana de alimentação com dieta hiperlipídica (n=3/grupo, estatística por *Test T student*). Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

Com relação aos testes físicos realizados de 3 repetições máximas (3RM) e resistência (figura 2), observamos que houve uma tendência a maiores valores em ambos os testes para os animais do grupo treinado, sendo que para o 3RM o  $p=0,06$  e no de resistência apresentou  $p=0,07$ , podendo assim considerar que o exercício físico utilizado proporcionou resultados promissores para melhorias no desempenho físico dos animais.

Figura 2: Teste de 3RM e resistência (B)

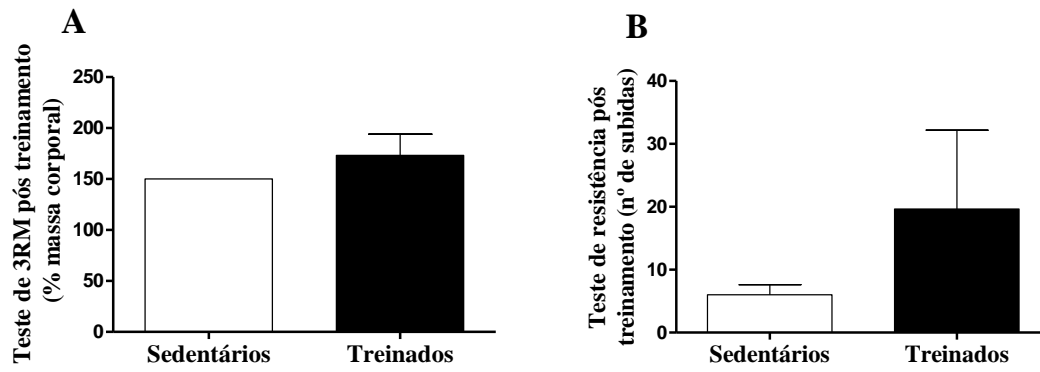


Figura 2: Teste de 3RM (A) e resistência (B) de camundongos Balb/c machos em resposta a exercício de subida em escada a partir da 6<sup>a</sup> semana de alimentação com dieta hiperlipídica (n=3/grupo, estatística por *Test T student*). Dados em média  $\pm$  desvio padrão.