

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

**Graciene Fernandes Araújo Campos Fonseca**

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE SUBIDA EM ESCADA  
SOBRE VARIÁVEIS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA À INSULINA EM  
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

**DIAMANTINA – MG**

**2020**

**Graciene Fernandes Araújo Campos Fonseca**

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE SUBIDA EM ESCADA  
SOBRE VARIÁVEIS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA À INSULINA 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**

**2020**

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

F676e

Fonseca, Graciene Fernandes Araújo Campos

Efeitos de um protocolo de treinamento de subida em escada sobre variáveis relacionadas à resistência à insulina em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica / Graciene Fernandes Araújo Campos Fonseca, 2020.

55 p.: il.

Orientador: Flávio de Castro Magalhães

Dissertação (Dissertação– Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

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

**CDD 612**

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecária: Viviane Pedrosa – CRB6/2641



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E**  
**MUCURI**

**GRACIENE FERNANDES ARAÚJO CAMPOS FONSECA**

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE SUBIDA EM ESCADA**  
**SOBRE VARIÁVEIS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA À INSULINA EM**  
**CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

**Dissertação** apresentada ao programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, **nível de Mestrado/Doutorado**, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Fisiológicas**.

Orientador: Prof. **Flávio de Castro Magalhães**

Data de aprovação 04/09/2020.

**Prof. Flávio de Castro Magalhães - (UFVJM)**

**Prof. Fernando Joaquim Gripp Lopes - (UFVJM)**

**Prof. Patrick Wander Endlich - (UFVJM)**



Documento assinado eletronicamente por **Flávio de Castro Magalhães, Servidor**, em 05/09/2020, às 15:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Joaquim Gripp Lopes, Servidor**, em 05/09/2020, às 16:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Patrick Wander Endlich, Servidor**, em 05/09/2020, às 17:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0159221** e o código CRC **8DED3C5C**.

---

Dedico este trabalho ao meu avô Alberto Flores.  
“Abaixo de Deus o melhor amigo do homem é o conhecimento”.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me dar forças nesta caminhada, por não me permitir desistir e por ser sempre o meu guia.

Ao meu pai José Paulo por todos os ensinamentos que me deixou.

À minha mãe Luzia e minha irmã Gracièlle, por todo o apoio e compreensão durante todo o caminho percorrido.

Aos meus tios e tias que sempre fizeram o possível para contribuir com os meus objetivos.

Ao Prof. Dr. Flávio de Castro Magalhães por todo incentivo, apoio e ensinamentos compartilhados.

À Juliana Sales, pela cumplicidade e por ser a grande incentivadora desse objetivo.

Aos meus amigos, por todo apoio, em especial à Stefanyne Teixeira e Lariane Dumbá, com quem dividi todos os momentos dos meus dias.

À Gabriela Silva pelo companheirismo, tempo e dedicação ao compartilhar conhecimento e me auxiliar em diversas técnicas.

Ao Paulo Henrique, ao professor Francemilson Goulart e ao ICB-USP pela disponibilidade e colaboração.

Aos amigos do PPGMCF, do CIPq-Saúde, dos laboratórios Letfis e Bioex pela cooperação e pela convivência, em especial à Karine Beatriz e Bruna Gabriela pelos momentos agradáveis e pelas palavras confortantes e incentivadoras.

Aos professores do PPGMCF e do CIPq-Saúde, especialmente à Profa. Etel Rocha Vieira, ao Prof. Gustavo Eustáquio Brito Alvim de Melo, ao Prof. Marco Fabrício Dias Peixoto e ao Prof. Ricardo Cardoso Cassilhas por toda a estrutura, equipamentos e insumos a mim disponibilizados.

À UFVJM e ao PPGMCF pela oportunidade de realização deste trabalho. Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desta etapa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

*“Não há comparação entre o que se perde por fracassar e o que se perde por não tentar.”*

*(Francis Bacon)*



## RESUMO

O treinamento físico é um importante método terapêutico não farmacológico para o tratamento e prevenção de diversas doenças como a obesidade, a resistência à insulina e o *diabetes mellitus* tipo 2. O treinamento de subida em escadas para roedores pode ser uma estratégia para estudar os efeitos do treinamento no metabolismo da glicose. Anteriormente, nosso grupo de pesquisa observou que o treinamento de subida em escada foi capaz de melhorar a tolerância à glicose e reduzir a adiposidade em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. No presente estudo utilizamos amostras provenientes daquele estudo para analisarmos a resistência à insulina, a função mitocondrial no tecido muscular e adiposo, e proteínas envolvidas com a resistência à insulina no tecido muscular esquelético. Quarenta e oito 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. Na quinta semana todos os animais foram adaptados para a subida em escada e passaram por testes físicos para determinação da carga utilizada no treinamento. Os grupos foram subdivididos em grupos sedentários e grupos treinados (n=12/grupo). Na sexta semana experimental se deu o início do protocolo de treinamento de forma progressiva que durou por 6 semanas. O treinamento de força de subida em escada melhorou a resistência à insulina e aumentou o conteúdo e fosforilação de proteínas relacionadas ao metabolismo de glicose que estavam alterados no animais sedentários alimentados com dieta hiperlipídica. O presente estudo mostrou que o treinamento de força de subida em escada foi capaz de melhorar a resistência à insulina, provavelmente por modular proteínas intracelulares relacionadas à via de sinalização da insulina.

**Palavras-chave:** resistência à insulina, treinamento de força, treinamento em escada.

## ABSTRACT

Physical training is an important non-pharmacological therapeutic method for the treatment and prevention of diseases such as obesity, insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. Rodent ladder training can be a strategy to study the effects of training without glucose metabolism. Previously, our research group noted that stair climbing training was able to improve glucose tolerance and reduce adiposity in mice fed a high-fat diet. In the present study, we used data from that study to analyze insulin resistance, mitochondrial function in muscle and adipose tissue, the proteins involved with insulin resistance in skeletal muscle tissue. Forty-eight animals were divided into 2 groups (n = 24) with a chow group fed commercial feed (10% of the fat calories) and an HFD group (on a high fat diet) fed with a high fat diet (42% of the fat calories) by 12 weeks. In the fifth week, all animals were adapted to climb stairs and underwent physical tests to determine the load used in training. The groups were subdivided into sedentary groups and trained groups (n = 12 / group). In the sixth experimental week, the training protocol started progressively, which lasted for 6 weeks. Stair climbing strength training improved insulin resistance and increased protein content and phosphorylation related to glucose metabolism that was altered in sedentary animals fed a high-fat diet. The present study showed that stair climbing strength training was able to improve insulin resistance, probably due to modular intracellular proteins related to the insulin signaling pathway.

**Keywords:** insulin resistance, strength training, stair training

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Divisão dos grupos experimentais.....	24
<b>Figura 2</b> - Delineamento experimental.....	25
<b>Figura 3</b> - Escada adaptada para camundongo.....	26
<b>Figura 4</b> - Camundongo com peso fixado à cauda.....	27
<b>Figura 5</b> - Protocolo de adaptação de subida em escada.....	27
<b>Figura 6</b> - Atividade citrato sintase em tecido muscular glúteo máximo.....	36
<b>Figura 7</b> - Atividade citrato sintase em tecido adiposo epididimal.....	37
<b>Figura 8</b> - Concentração de glicogênio no músculo gastrocnêmio.....	37
<b>Figura 9</b> - Blots representativos (A) e conteúdo de p-Akt (Ser473) (B) no tecido muscular gastrocnêmio.....	38
<b>Figura 10</b> - Blots representativos (A) e conteúdo de Hsp72 (B) no tecido muscular gastrocnêmio.....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Composição das dietas experimentais e ração padrão.....	Anexo A
<b>Tabela 2-</b> Protocolo de treinamento físico.....	29
<b>Tabela 3-</b> Relação dos anticorpos utilizados para detecção das proteínas do tecido muscular.....	33
<b>Tabela 4-</b> Glicemia, concentração sérica de insulina e HOMA-IR .....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RM - repetição máxima

AKT - proteína quinase B

AS160 - substrato da Akt de 160 kDa

ATP - adenosina trifosfato

BSA - albumina de soro bovino

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DM2 - *diabetes mellitus* tipo 2

GLUT4 - transportador de glicose 4

HbA<sub>1c</sub> - hemoglobina glicada

HFD - dieta hiperlipídica

HOMA-IR - modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina

HSP - proteína de choque térmico

Hsp72 - proteína de choque térmico 72 kDa

IR - receptor de insulina

IRS - substrato do receptor de insulina

PGC-1 $\alpha$  - Co ativador 1 alpha do receptor gamma ativado por proliferador de peroxissoma

PVDF - difluoreto de polivinilideno

ROS - espécies reativas de oxigênio

TBS - tampão tris salina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVO</b> .....	15
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	15
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	15
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
<b>3.1 Obesidade, resistência à insulina e <i>diabetes mellitus</i> tipo 2</b> .....	16
<b>3.2 Mecanismos da resistência à insulina</b> .....	16
<b>3.3 Mitocôndria e resistência à insulina</b> .....	17
<b>3.4 Hsp e resistência à insulina</b> .....	18
<b>3.5 Treinamento físico e resistência à insulina</b> .....	20
<b>3.6 Treinamento de força, resistência à insulina e <i>diabetes mellitus</i> tipo 2</b> .....	21
<b>3.7 Modelo animal de treinamento de força e resistência à insulina</b> .....	21
<b>3.8 Exercício de força e mitocôndria</b> .....	22
<b>3.9 Exercício de força e Hsp</b> .....	23
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	24
<b>4.1 Animais e condições experimentais</b> .....	24
<b>4.2 Delineamento experimental</b> .....	24
<b>4.3 Dieta</b> .....	25
<b>4.4 Protocolo de treinamento físico</b> .....	26
<b>4.4.1 Adaptação</b> .....	27
<b>4.4.2 Protocolo de treinamento físico</b> .....	27
<b>4.5 Coleta de sangue e eutanásia</b> .....	30
<b>4.6 Análises</b> .....	30
<b>4.6.1 Concentração sérica de insulina e HOMA-IR</b> .....	30
<b>4.6.2 Atividade da citrato sintase</b> .....	30
<b>4.6.4 Conteúdo e fosforilação de proteínas - Western Immunoblot</b> .....	32
<b>4.7 Análise estatística</b> .....	33
<b>5 RESULTADOS<sup>§</sup></b> .....	35
<b>5.1 Resultados de Costa (2018)</b> .....	35
<b>5.2 Concentração sérica de insulina e HOMA-IR</b> .....	35

<b>5.3 Atividade da citrato sintase.....</b>	<b>36</b>
<b>5.5 Análise de proteínas do tecido muscular gastrocnêmio.....</b>	<b>37</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXO A – COMPOSIÇÃO DA DIETA HIPERLIPÍDICA.....</b>	<b>56</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O exercício físico é um importante recurso terapêutico, não-farmacológico para o tratamento e prevenção de diversas doenças, principalmente as decorrentes do excesso de adiposidade. Sabe-se que o exercício auxilia na redução do peso corporal, leva a menor depósito de tecido adiposo, e induz perfis antioxidantes (DE 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). Esses benefícios indicam que indivíduos que praticam exercícios físicos se beneficiam de uma série de fatores que promovem melhor qualidade de vida e maior controle de patologias, como a obesidade e suas consequências, como a resistência à insulina e o *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2).

O treinamento físico, entendido como a realização programada e repetida de sessões de exercício ao longo do tempo, é capaz de aumentar a sensibilidade à insulina, através de sua capacidade de aumentar a expressão e/ou atividade de compostos da via de sinalização deste hormônio (TERAN-GARCIA *et al.*, 2005; HAWLEY; LESSARD, 2008). O treinamento físico é um grande aliado na diminuição da resistência à insulina por proporcionar redução dos níveis de hemoglobina glicosilada, ampliação da expressão de transportadores de glicose Glut4 e proteínas sinalizadoras, além de aumentar a atividade de enzimas associadas à função mitocondrial e glicogênese no músculo esquelético (CODELLA *et al.*, 2018). Tais modificações são geradas por diversos mecanismos que estimulados pelo exercício promovem maior captação e utilização de glicose.

Holloszy e Booth (1976) demonstraram que o treinamento físico tem capacidade em aumentar a biogênese mitocondrial e a função oxidativa muscular. Isso sugere que os efeitos benéficos do treinamento podem estar relacionados a regulação do estado redox celular pelo aprimoramento de defesas antioxidantes (VILELA *et al.*, 2018). Além disso, o treinamento físico promove aumento da expressão da proteína de choque térmico de 72 kDa (Hsp72) que protege as células contra ataques oxidativos das espécies reativas de oxigênio (ROS) (SILVER; NOBLE, 2012; JANG *et al.*, 2008) e na regulação do metabolismo da glicose (KRISAN *et al.*, 2004).

Estudos têm sugerido que o treinamento de força leva a resultados satisfatórios na melhoria do controle glicêmico. Como discutido por Codella *et al.* (2018) várias alterações metabólicas relacionadas ao controle glicêmico são ocasionadas pelo exercício de força, como o aumento dos níveis de Glut4, aumento da proteína quinase B (Akt), das reservas e síntese de



glicogênio muscular, além de aumento no conteúdo e função mitocondrial. Os efeitos do treinamento de força sobre o DM2, por exemplo, sugerem um impacto positivo nos resultados clínicos, se comparados com o treinamento aeróbico, demonstrando melhorias nos níveis de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>) (ARORA *et al.*, 2009; CAUZA *et al.*, 2005; BOULÉ *et al.*, 2003).

São muitos os estudos que buscam observar o papel do treinamento de força na obesidade e nas demais patologias relacionadas a ela, como a resistência à insulina e o DM2 (KELLEY; KELLEY, 2009; JORGE *et al.*, 2011; BACCHI *et al.*, 2012; BANITALEBI *et al.*, 2019). No entanto, ainda existem lacunas na literatura quanto aos efeitos do treinamento de força sobre alterações intramusculares relacionadas à resistência à insulina. Por exemplo, ainda carecem de maior investigação os efeitos do treinamento de força em escada sobre a atividade da citrato sintase em tecido muscular e adiposo, a ativação da via de sinalização intracelular da insulina no músculo esquelético, a concentração de glicogênio muscular e o conteúdo da proteína de choque térmico 72 kDa (Hsp72). O modelo animal permite investigar de forma mais invasiva essas variáveis. Portanto, o presente estudo buscou investigar os efeitos de um protocolo de treinamento de força em escada utilizando camundongos Balb/c alimentados com dieta hiperlipídica.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar os efeitos de um protocolo de treinamento de força em escada sobre variáveis relacionadas à resistência à insulina em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar os efeitos de um protocolo de treinamento de força em escada em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica sobre:

- A resistência à insulina.
- A atividade da citrato sintase em tecido muscular e adiposo.
- A concentração muscular de glicogênio.
- A ativação da via de sinalização intracelular da insulina no músculo esquelético.
- O conteúdo da proteína de choque térmico 72 kDa (Hsp72) no tecido muscular esquelético.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Obesidade, resistência à insulina e *diabetes mellitus* tipo 2

O número de pessoas obesas tem crescido significativamente ao longo dos anos e a obesidade é considerada uma epidemia mundial. Em 2016, 39% dos adultos com 18 anos ou mais estavam acima do peso e 13% eram obesos (WHO,2016). Sugere-se que no ano 2025 cerca de 2,5 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões de pessoas estarão obesas (WHO, 2016). No Brasil, a prevalência da obesidade teve um aumento nos últimos anos, sendo observado aumento de 72% entre 2006 e 2019, com uma prevalência aumentando de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019 (BRASIL, 2019).

A obesidade está ligada ao desencadeamento do DM2. O diabetes do tipo 2 é a forma mais comum do diabetes mellitus e responde por cerca de 90% a 95% dos casos de diabetes mellitus (SUPLICY; FIORIN, 2012). Menke *et al.* (2015), ao examinar a tendência nos dados de prevalência de obesidade na população dos Estados Unidos entre os anos de 1988 e 2012, observaram que grande parte do aumento da prevalência de DM2 foi concomitante ao aumento da prevalência de obesidade. A ligação entre obesidade e DM2 se dá por meio da resistência à insulina. A resistência à insulina é uma doença metabólica caracterizada pela diminuição da capacidade dos tecidos em responder à ação da insulina (CEFALU, 2001).

#### 3.2 Mecanismos da resistência à insulina

Em condições normais nos tecidos musculares esqueléticos e tecido adiposo a captação da glicose é feita principalmente pela ação da insulina (DEFRONZO, 1997). Na resistência à insulina tal capacidade de estimulação encontra-se afetada (KIM; WI; YOUN, 1996), o que pode ser ocasionado por deficiência nos receptores de insulina ou mecanismos subsequentes durante sua ativação (ADA,1997). Portanto, a resistência à insulina corresponde a uma diminuição na capacidade da insulina em estimular a captação de glicose, por ineficiência do receptor de insulina ou defeito em um ou mais mecanismos pós-receptores (DANDONA; ALJADA; BANDYOPADHYAY, 2004).

Como revisado por Gutiérrez-Rodelo *et al.* (2017) as principais causas da resistência à insulina são alterações que incluem modificações nos substratos dos receptores de insulina (IRS) e bases moleculares relacionadas a captação de glicose. Dentre essas alterações se destacam a diminuição do número de receptores de insulina e de sua atividade catalítica, o aumento da fosforilação dos resíduos de serina/treonina, o aumento da atividade dos resíduos de tirosina, a diminuição da atividade da fosfatidilinositol 3-quinases (Pi3k) e a proteína quinase

B (Akt), além de defeitos na função e expressão do transportador de glicose do tipo 4 (Glut-4). Estas alterações diminuem a capacidade da insulina de exercer seu papel na captação de glicose pelos tecidos, desencadeando o quadro de resistência à insulina. Diversos são os mecanismos através dos quais ocorre a geração da resistência à insulina dentre eles se destacam aqueles induzidos por dieta rica em gorduras saturadas.

Estudos mostram o papel dos ácidos graxos livres sobre a expressão de genes envolvidos no metabolismo da glicose. O acúmulo de ácidos graxos intracelulares e de derivados do metabolismo lipídico é gerador de lipotoxicidade (HIRABARA *et al.*, 2010), responsável pela redução do recrutamento do substrato receptor de insulina IRS-1 na sinalização à insulina, aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (BLOCH-DAMTI *et al.*, 2005) e de espécies reativas de nitrogênio (NOS) (DUVAL *et al.*, 2007). Essas alterações em conjunto inibem a via intracelular de sinalização da insulina e são consideradas mecanismos promotores da resistência à insulina.

Entre as moléculas cruciais da via de sinalização da insulina que podem ser afetadas levando a resistência à insulina está a proteína Akt, também conhecida como proteína quinase B (PKB). A ativação da Akt leva a fosforilação do substrato Akt de 160 kDa, AS160 (TBC1D4), aumentando a translocação do Glut4 para a membrana da célula, ocorrendo assim maior captação de glicose pelas células dos tecidos muscular e adiposo (O'NEILL, 2013; CARTEE, 2015). Assim, quando a sinalização da Akt estimulada pela insulina é afetada é observada diminuição da translocação de Glut4 reduzindo a captação de glicose pelas células e interferindo diretamente na resposta à insulina.

### **3.3 Mitocôndria e resistência à insulina**

A lipotoxicidade causada por ácidos graxos saturados, característica da resistência à insulina, também gera a perda de função mitocondrial. Quando animais ou indivíduos são submetidos a dieta rica em gordura ou à infusão lipídica, algumas desordens podem ser observadas nas mitocôndrias, como redução na síntese de ATP, na fosforilação oxidativa, na respiração mitocondrial e do potencial de membrana mitocondrial no músculo esquelético (BONNARD *et al.*, 2008; SCHRAUWEN *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2019). Estudos mostraram menor expressão de genes mitocondriais em indivíduos resistentes à insulina (HEILBRONN *et al.*, 2007) e diminuição da atividade destas enzimas como a citrato sintase em obesos e diabéticos (HULVER *et al.*, 2002). O acúmulo de lipídios intramusculares tem sido associado a diminuição da expressão de PGC1- $\alpha$  e de genes que codificam proteínas da cadeia

transportadora de elétrons, resultando na diminuição da biogênese e causando disfunção mitocondrial (SPARKS *et al.*, 2005), levando a alterações no ciclo de Krebs, perda de atividade dos complexos respiratórios mitocondriais I, IV e V e a redução da produção de ATP (BOULINGUIEZ *et al.*, 2017). A redução no conteúdo e na capacidade mitocondrial podem levar a redução significativa da oxidação lipídica muscular, causando um ciclo vicioso, o que proporciona o acúmulo de lipídios (PETERSEN *et al.*, 2003; LOWELL; SHULMAN, 2005) e conseqüentemente a supressão da sinalização de insulina e redução da síntese de glicogênio (LOWELL; SHULMAN, 2005).

Meex *et al.* (2010) indicam que a função mitocondrial comprometida, combinada com aumento lipídico intramiocelular, pode contribuir para a redução da sensibilidade à insulina, e confirmam que a redução da função mitocondrial é comum entre indivíduos resistentes à insulina. Entre os mecanismos presentes na disfunção mitocondrial ligados à resistência à insulina está a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelas mitocôndrias. Dietas ricas em gorduras e a obesidade induzem um estado geral de estresse oxidativo a partir do aumento do metabolismo de lipídeos pelas mitocôndrias. O aumento da disponibilidade desse substrato energético no meio intracelular, aumenta a beta oxidação na matriz mitocondrial, com conseqüente produção de ROS, como a produção do radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) estando estes relacionados às mudanças metabólicas induzidas pelo alto teor de gordura presente na dieta (RINDLER *et al.*, 2013). Além disso, as altas concentrações de ácidos graxos aumentam a atividade da Acil-CoA desidrogenase de cadeia muito longa, proteína envolvida na oxidação de ácidos graxos, que resulta na superprodução de  $H_2O_2$  mitocondrial (CARDOSO; KAKIMOTO; KOWALTOWSKI, 2013).

Quando ocorre uma grande produção de ROS que se sobrepõe a capacidade antioxidante, o estresse oxidativo é gerado, caracterizando o desequilíbrio redox. As ROS induzem danos oxidativos ao DNA das mitocôndrias, lipídios e proteínas e sinalizam moléculas indutoras da resistência à insulina (SERGI *et al.*, 2019). Assim, o estresse oxidativo não interfere apenas na via de sinalização da insulina, promovendo diretamente a resistência à insulina, mas também pode gerar indiretamente dificuldades de sinalização da insulina a partir do dano mitocondrial.

### **3.4 Hsp e resistência à insulina**

As proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*, Hsp) são uma família de proteínas, das quais faz parte a proteína de peso molecular 70 kDa (Hsp70), que é induzida em resposta

ao estresse celular e ao choque térmico (MEYER; SILVA, 1999). A síntese dessa proteína pode ser induzida pela presença de outros fatores, como análogos de aminoácidos e glicose, metais pesados, estimuladores da proteína quinase C (PKC), agentes que elevam a concentração intracelular de cálcio, isquemia, infecções, óxido nítrico, hormônios e antibióticos. As HSPs possuem função de chaperonas celulares, evitando a agregação inadequada de proteínas, além de mediar o transporte de proteínas imaturas para as organelas de destino, para o empacotamento final, a degradação ou reparo (KIANG; TSOKOS, 1998). As HSPs exercem, portanto, a função de protetoras celulares.

Em um estudo seminal realizado com pacientes diabéticos tipo 2, Hooper (1999) elevou a temperatura corporal dos indivíduos (aumento médio de 0,8°C) por meio de imersão em água aquecida, durante 30 minutos, seis dias por semana, durante três semanas em um processo similar a aclimação ao calor passiva, que eleva a expressão de Hsp72 em diversos tecidos corporais (YAMADA *et al.*, 2007; MAGALHÃES *et al.*, 2010). Após a terapia com calor, os pacientes apresentaram melhora no controle glicêmico, evidenciado pela diminuição dos valores de HbA<sub>1c</sub>. Esses resultados demonstram a relação benéfica entre o aumento da expressão de Hsp72 e o controle do DM2.

O papel da Hsp72 tem sido analisado por diversos estudos que buscam elucidar seus efeitos no controle da obesidade e resistência à insulina. Chung *et al.* (2008) investigaram a interferência da expressão da Hsp72 no músculo esquelético na redução da resistência à insulina. No estudo a expressão da Hsp72 foi induzida no músculo esquelético de animais obesos resistentes à insulina por diferentes meios: exposição ao calor (41.5°C de temperatura interna, uma vez por semana, durante 16 semanas), indução farmacológica da Hsp72 (administração do derivado de hidroxilamina, BGP-15, durante 15 dias) ou superexpressão gênica da Hsp72. Após os tratamentos foi observada melhora da tolerância à glicose. Todas as formas de induzir aumento na expressão de Hsp72 protegeram os camundongos contra a resistência à insulina, além de impedir alterações na gordura corporal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica (HFD).

Estudo recente realizado em mulheres com síndrome dos ovários policísticos sugere que a indução da expressão das HSPs pode ser um tratamento não farmacológico a resistência à insulina. Ely *et al.* (2019) submeteram mulheres obesas com síndrome dos ovários policísticos ao estresse térmico, a partir de 30 sessões de termoterapia de uma hora em banheira de hidromassagem durante 8 a 10 semanas, o que elevou a temperatura central até 38,5° C. Após a terapia as participantes apresentaram melhora na tolerância à glicose, redução de marcadores

inflamatórios e melhora da sensibilidade à insulina, além de melhoras significativas nos indicadores clínicos da síndrome dos ovários policísticos. Sendo assim, métodos que induzam o aumento da expressão da Hsp72 podem contribuir para o tratamento da resistência à insulina.

### **3.5 Treinamento físico e resistência à insulina**

O treinamento físico promove diversos efeitos fisiológicos e metabólicos benéficos para a saúde. Podem-se destacar o aumento da massa muscular esquelética, o ganho de força, a diminuição dos estoques de gordura, o aumento do gasto calórico, o aumento da taxa metabólica de repouso, o aumento da tolerância à glicose e a melhoria da sensibilidade à insulina (KELLEY; KELLEY, 2013). Além disso, o treinamento físico é um grande aliado na diminuição da resistência à insulina por proporcionar diversas alterações, como redução dos níveis de hemoglobina glicosilada, ampliação da expressão de transportadores de glicose Glut4 e proteínas sinalizadoras, além de atividades elevadas de enzimas associadas à função mitocondrial e glicogênese no músculo esquelético (CODELLA *et al.*, 2018). Tais modificações são geradas por diversos mecanismos que estimulados pelo exercício promovem maior captação e utilização de glicose. Por exemplo, Shiroma *et al.* (2018) analisaram a associação do treinamento físico com a incidência de DM2 e o risco cardiovascular. Comparadas às mulheres que não relataram a realização de nenhum tipo de exercício, as mulheres que realizavam exercício de força ou aeróbicos apresentaram um índice 30% menor de DM2 e 17 % menor em relação a doenças cardiovasculares. Esses resultados sugerem que a participação no exercício de força e a atividade aeróbica foi associada a menor risco de DM2 e doenças cardiovasculares. Portanto, não é de surpreender que o treinamento físico é de grande importância no tratamento e prevenção da resistência à insulina e o DM2.

O treinamento físico melhora a resistência à insulina por diversos fatores, dentre os quais destacam-se a maior sensibilidade à insulina e o aumento da função mitocondrial. Segundo alguns estudos o treinamento físico potencializa o efeito da insulina na fosforilação do IRS-1/2 com consequente aumento da atividade da fosfatidilinositol 3-quinase (Pi3k) (HOWLETT *et al.*, 2002). A Pi3k está envolvida no aumento da fosforilação da Akt, proteína chave na efetivação dos efeitos fisiológicos da insulina (WOJTASZEWSKI *et al.*, 1999). O aumento na fosforilação da Akt leva a fosforilação do substrato Akt de 160 kDa, AS160 (TBC1D4), que é responsável pelo aumento da translocação de Glut 4 para captação de glicose (CARTEE, 2015). O aumento da translocação de Glut4 para a membrana sarcoplasmática aumenta a captação e utilização de glicose, assim como o armazenamento de glicogênio. O treinamento

físico também promove a biogênese mitocondrial, aumentando a capacidade dessa organela (BERGERON *et al.*, 2001). Devido à relação já demonstrada entre a disfunção mitocondrial e resistência à insulina, o treinamento físico, por aumentar a função mitocondrial, melhora a resistência à insulina. Sendo assim, o treinamento físico está relacionado à melhora na resistência à insulina pela maior ativação da via intracelular da insulina e por aumentar a biogênese e função mitocondrial.

### **3.6 Treinamento de força, resistência à insulina e *diabetes mellitus* tipo 2**

Estudos sobre os efeitos do treinamento de força sobre o DM2, sugerem um impacto positivo, observado, por exemplo, por meio de melhorias nos níveis de HbA<sub>1c</sub>. Como discutido por Codella *et al.* (2018) várias alterações metabólicas relacionadas ao controle glicêmico são ocasionadas pelo exercício de força, como o aumento dos níveis de Glut4, da Akt, das reservas e síntese de glicogênio muscular, além de aumento no conteúdo e função mitocondrial. Por exemplo, Cui *et al.* (2020) demonstraram maior captação de glicose no corpo inteiro e aumento da sensibilidade à insulina relacionado ao aumento da fosforilação de Akt e a translocação de Glut4 para a membrana plasmática em resposta a um treinamento de força. Portanto, o treinamento de força melhora o metabolismo da glicose por meio da ativação de mecanismos responsáveis pela captação de glicose e aumento da sensibilidade à insulina.

### **3.7 Modelo animal de treinamento de força e resistência à insulina**

Modelos experimentais de treinamento de força têm sido empregados para a investigação de mecanismos potenciais relacionados aos seus efeitos sobre variáveis que afetam a sensibilidade à insulina. Cui *et al.* (2020) utilizaram um modelo de treinamento voluntário de levantamento de peso capaz de promover atividades musculares semelhante ao agachamento, em camundongos machos C57BL/6J, ao longo de 8 semanas. O treinamento resultou em aumento da sensibilidade a insulina, sugerindo o papel do exercício de força na ativação de mecanismos responsáveis pela melhora da resistência à insulina. Outros estudos têm utilizado protocolos de treinamento de força com exercícios de subida em escada para camundongos e identificam uma série de fatores benéficos proporcionados pelo treinamento de força no tratamento e prevenção da resistência à insulina. Recentemente, Guedes *et al.* (2020) utilizaram um protocolo de subida em escada para camundongos Swiss alimentados com dieta hiperlipídica, com 3 formas de treinamento, treinamento para hipertrofia, treinamento para resistência muscular e treinamento de força, todos realizados durante 10 semanas. Os autores



identificaram que os protocolos foram igualmente apropriados na redução do peso corporal, no índice de adiposidade, na área dos adipócitos, na inflamação crônica e ainda foram eficazes na melhora da resistência à insulina. Em conjunto esses estudos demonstram que o modelo animal de treinamento de força é apropriado para estudar os efeitos desse tipo de treinamento sobre a resistência à insulina e demais variáveis que se relacionam a essa condição metabólica.

### **3.8 Exercício de força e mitocôndria**

As mitocôndrias estão envolvidas em uma série de processos celulares tais como as vias de biossíntese, síntese hormonal, manutenção da homeostase e morte celular (DOMINY; PUIGSERVER, 2013; PLOUMI *et al.*, 2017). Estabelecem devido à importância dessas funções dentro da célula, uma complexa cadeia com o núcleo, se adaptando em relação ao seu número e função, modificações do seu estado homeostático e alterações metabólicas (PLOUMI *et al.*, 2017). Assim, as mitocôndrias possuem papel essencial nas células pela manutenção da homeostase e sua disfunção acarreta uma série de desordens promotoras de patologias.

A biogênese mitocondrial tem grandes efeitos sobre o conteúdo e função das mitocôndrias, sendo atenuada pelo envelhecimento, sedentarismo e diversas doenças crônicas. Holloszy e Booth, (1976) demonstraram que o exercício tem capacidade em aumentar a biogênese mitocondrial e a função oxidativa muscular, indicando que os efeitos benéficos do treinamento podem estar relacionados a regulação do estado redox celular pelo aprimoramento das defesas antioxidantes (VILELA *et al.*, 2018). Segundo Hood *et al.* (2016) cada sessão de exercício aumenta a expressão de mRNAs específicos que resultam em novas proteínas relacionada à biogênese mitocondrial. Sendo assim, a síntese de novas mitocôndrias é resultado do acúmulo de estímulos agudos que ocorrem durante o processo de treinamento.

Alguns estudos sugerem que o treinamento de força é eficaz em estimular a sinalização de mecanismos presentes no músculo esquelético para geração da biogênese mitocondrial (WILKINSON *et al.*, 2008; VISSING *et al.*, 2013). Como revisado por Hawley *et al.* (2018) o exercício de força promove agudamente a expressão de mRNA de vários genes envolvidos no metabolismo e no processo de biogênese mitocondrial. Porter *et al.* (2015) avaliaram os efeitos de um programa de treinamento de força de 12 semanas na função mitocondrial do músculo esquelético de jovens saudáveis. Observaram alterações qualitativas e quantitativas na respiração mitocondrial, sugerindo que o treinamento de força é uma forma de aumentar a capacidade respiratória mitocondrial e sua função no músculo esquelético. Esses achados foram corroborados por Lim *et al.* (2019) que observaram aumento do conteúdo de várias proteínas

mitocondriais após 10 semanas de treinamento de força em homens. Em um estudo recente, Berg *et al.* (2020) demonstram a ocorrência de adaptações mitocondriais qualitativas após o período de treinamento, embora o conteúdo mitocondrial não tenha sido afetado. Aumento da função e da biogênese mitocondrial foram observados em modelo animal com treinamento de força de subida em escada em ratos da linhagem Sprague-Dawley (LEE *et al.*, 2018). A partir desses estudos fica claro que o treinamento de força é eficaz em estimular adaptações mitocondriais.

### 3.9 Exercício de força e Hsp

O exercício físico é um estressor capaz de induzir a síntese de proteínas Hsp no músculo esquelético (STEINACKER *et al.*, 2004). Durante o estímulo do exercício, a ativação do fator de choque térmico 1 (HSF1) levará ao aumento dos níveis de mRNA e proteicos de Hsp, tornando a célula mais resistente a futuros estressores prejudiciais (LOCKE, 1997). De fato, Reichsman *et al.* (1991) observaram níveis elevados de Hsp70 no músculo esquelético de humanos submetidos a protocolos de exercício de força.

Apesar de escassos na literatura estudos sobre a expressão da Hsp70 a partir do treinamento de força têm ganhado espaço. Paulsen *et al.* (2012) identificaram o aumento citosólico da expressão de Hsp70 no músculo vasto lateral acompanhado pelo crescimento muscular e aumento de força após 11 semanas de treinamento de força em humanos. Liu *et al.* (2006) observaram um aumento dos níveis de Hsp70 no vasto lateral após 2 e 11 semanas de treinamento de força. Por outro lado, Gjøvaag; Vikne; Dahl. (2006) realizaram treinamento de força progressivo de alta carga com homens já treinados, 2-3 vezes por semana durante 12 semanas e comparando com os níveis pré-exercício, identificaram menor expressão de Hsp72 em homogenatos de tecido muscular bíceps braquial. Tais resultados sugerem que a expressão da Hsp72 a partir do treinamento de força precisa ser melhor investigada.

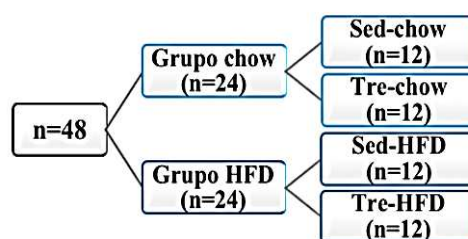
## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais e condições experimentais

Camundongos machos da linhagem Balb/c, recém-desmamados, com idade inicial de 3 semanas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais, foram mantidos, manipulados e eutanasiados de acordo com os princípios éticos 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, em temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ), com ciclo invertido claro/escuro de 12/12h e acesso *ad libitum* a água filtrada 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 executado no Laboratório Experimental de Treinamento Físico (LETFis) do Departamento de Educação Física (DEFI) dessa instituição.

### 4.2 Delineamento experimental

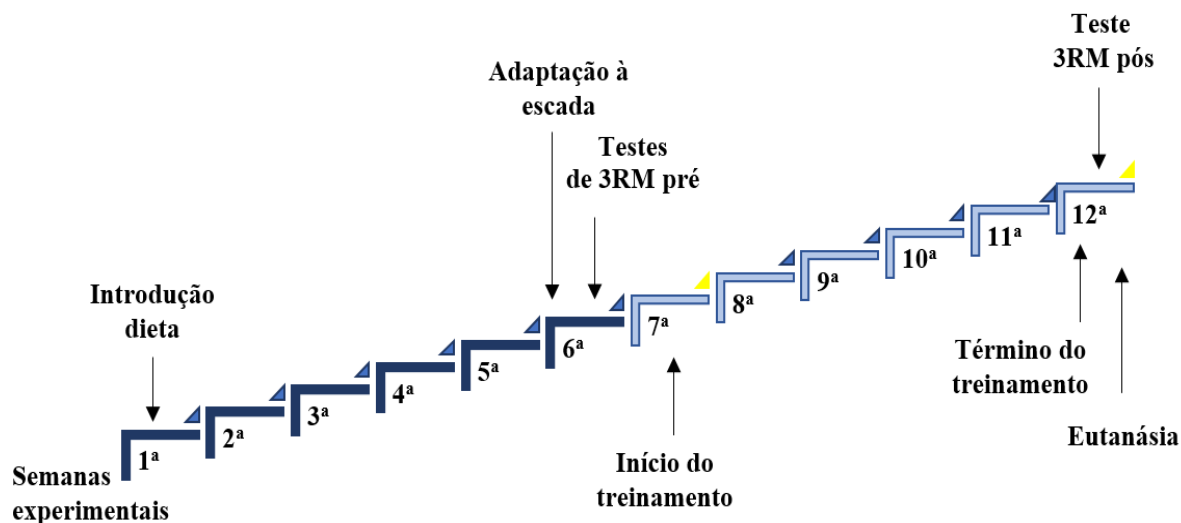
O experimento foi realizado com 48 animais divididos inicialmente em 2 grupos (n=24) sendo grupo *Chow* alimentado com ração comercial e grupo *high-fat diet* (HFD) alimentado com dieta hiperlipídica. Esses grupos foram subdivididos em grupos sedentários (Sed) e grupos treinados (Tre). Assim os 4 grupos 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 quinta semana experimental os animais permaneceram sedentários e na sexta semana todos foram adaptados para a subida em escada. O treinamento para os grupos Tre-chow e Tre-HFD ocorreu da 7<sup>a</sup> à 12<sup>a</sup> semana experimental. A massa corporal e a ingestão

alimentar foram pesadas semanalmente. Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento 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 padrão (Nuvilab, Quimtia). Os animais do grupo HFD receberam dieta hiperlipídica e hipercalórica para indução de obesidade e resistência à insulina, contendo 39% de carboidratos, 19% de proteínas e 42% de gorduras tendo 32% de calorias a mais que a ração padrão (Tabela 1) (Anexo A). Os grupos receberam as respectivas dietas durante 12 semanas.

A dieta hiperlipídica foi produzida em laboratório em condições adequadas de higiene e a partir da mistura de ração padrão moída, banha de porco, xarope de milho e leite em pó desnatado, as quantidades estão apresentadas na tabela 1 (Anexo A). A mistura foi peneirada para uniformização e prensada com o auxílio de seringas de 20 ml formando paletes de aproximadamente 10 g cada e mantida sob refrigeração até sua utilização.

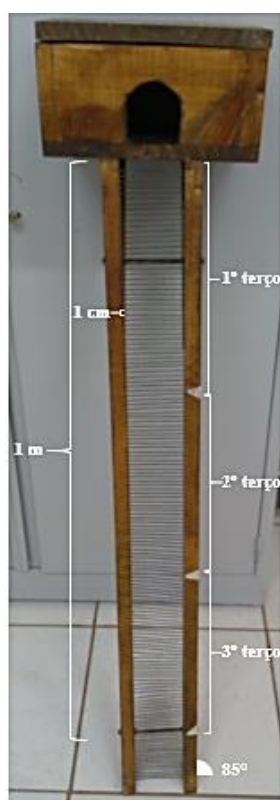
A composição da dieta hiperlipídica foi baseada no estudo de Yoshimura *et al.* (2016), sendo a fonte lipídica alterada para banha de porco, pois esta é mais frequentemente utilizada nos estudos com indução de obesidade e resistência à insulina (BUETTNER *et al.*, 2006;

WHITE, 2013). Além disso, julgamos necessário o aumento da quantidade de leite em pó para elevar o valor proteico da dieta modificada, assemelhando-se ao valor da dieta padrão, com o intuito de reduzir riscos de prejuízo ao crescimento dos animais recém-desmamados. Através de um estudo piloto, identificamos que a dieta modificada desse modo foi eficiente em desenvolver obesidade e resistência à insulina em camundongos Balb/C recém-desmamados sem interferir no crescimento dos animais.

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 treinamento físico.

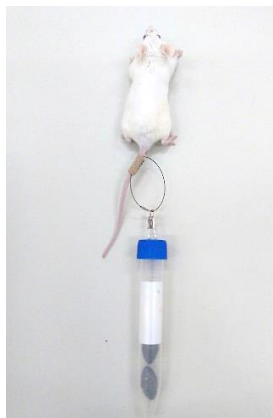
#### 4.4 Protocolo de treinamento físico

O treinamento físico foi realizado 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  $85^\circ$ , 1 metro de altura e espaço de 1 centímetro entre os degraus (figura 3).



**Figura 3: Escada adaptada para camundongos**

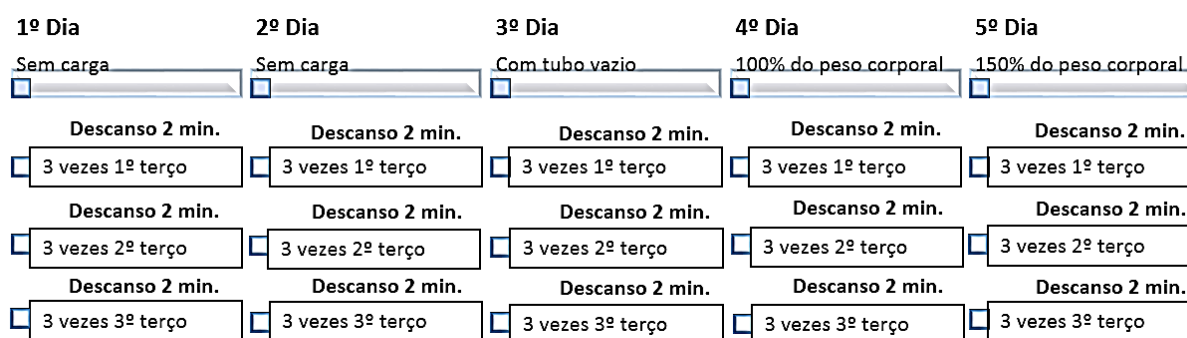
Pesos foram fixados à cauda dos animais que consistiam em esferas de chumbo dentro de um tubo *falcon* que foi fixado à parte proximal da cauda do animal por um fio de linha de pesca preso à tampa do tubo e aderido com uma bandagem autoadesiva (figura 4).



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

#### 4.4.1 Adaptação

Na semana anterior ao início do protocolo de treinamento físico foi realizada adaptação de subida em escada, inicialmente sem peso e aumentando 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 (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**

#### 4.4.2 Protocolo de treinamento físico

O protocolo de treinamento físico propriamente dito consistiu em 6 semanas de exercício, 3 vezes por semana, no qual o número de séries e subidas foi sendo aumentado

progressivamente ao longo das semanas. Anteriormente ao início do período de treinamento e após a quinta sessão de adaptação, foi realizado o teste de 3 repetições máximas (3RM) para fins de prescrição da intensidade do treinamento. O teste consistiu em o animal subir a escada inteira (considerado nesse estudo como uma repetição), inicialmente com 150% do peso corporal fixado à cauda. Caso o animal conseguisse realizar 3 subidas sem descanso, ele descansava por 2 minutos no compartimento superior da escada e o peso fixado à cauda era acrescido em 10% para nova tentativa de 3 subidas. Esse procedimento foi repetido até o animal não conseguir subir 3 vezes consecutivas a escada com o respectivo peso. Para isso, foi determinado que ao ser estimulado na cauda utilizando apenas pressão moderada exercida pela pinça entre os dedos indicador e polegar por três vezes consecutivas e o animal não continuasse a subida ou soltasse as patas da escada, o teste era interrompido e o peso suportado na última sessão completa de 3 repetições era considerado o 3RM do animal (FERRARESI *et al.*, 2014). O teste também foi realizado ao final do período de treinamento a fim de verificar a efetividade do protocolo. O treino iniciou com 5 séries de 6 subidas e carga de 80% do peso do teste de 3RM. A cada semana foi analisada a possibilidade de aumentar ou o número de séries, ou subidas ou a carga, terminando assim com 6 séries de 8 subidas e carga correspondente a 110% do 3RM (TAB.2).





## 4.5 Coleta de sangue e eutanásia

Os animais foram anestesiados com xilazina (Syntec, Cotia, Brasil) (10 a 15 mg/kg) mais ketamina (Syntec, Cotia, Brasil) (100 a 150 mg/kg). Após perda da sensibilidade ao estímulo pedal, sangue foi coletado (~300 µl) por meio de corte na ponta da cauda. Cerca de 2 µl foram utilizados para a medida imediata da glicemia por meio de um medidor portátil de glicose (Roche, Accu-ChekPerforma Nano, Rio de Janeiro, Brasil). Em seguida, foi injetada via intraperitoneal 10 U de insulina humana regular (Humulin R – derivada de ADN recombinante, 100 UI/mL, Lilly, Indianápolis, EUA) por kg de massa corporal, para ativação da via da insulina (SILVA *et al.*, 2018). Em seguida, ainda sob o efeito da anestesia, os animais foram eutanasiados através do método físico de deslocamento cervical. Foram retirados os músculos gastrocnêmio, e glúteo máximo e a gordura epididimal.

## 4.6 Análises

### 4.6.1 Concentração sérica de insulina e HOMA-IR

As amostras sanguíneas foram centrifugadas (ThermoScientific, Langensfeld, Alemanha) a 3000 x g, 20 minutos, 4° C, aliqüotadas e armazenadas a -20° C até o uso. A concentração sérica de insulina foi medida utilizando-se um ensaio de ELISA disponível comercialmente, seguindo as instruções do fabricante (Millipore, Cat.# EZRMI-13K). A leitura foi feita em leitor de microplacas (Molecular Devices, Sunnyvale, EUA). A resistência à insulina foi determinada pelo HOMA-IR a partir dos valores de glicemia e insulinemia de jejum, de acordo com a equação:  $HOMA-IR = \text{glicemia (mmol)} \times \text{insulina (uU/mL)} \div 22,5$  (MATTHEWS *et al.*, 1985). O valor do grupo Sed-chow foi considerado como 1 ( $\pm$  DP) e os valores dos demais grupos foram relativizados para os do grupo Sed-chow.

### 4.6.2 Atividade da citrato sintase

A determinação da atividade enzimática de citrato sintase foi feita por meio de ensaio (ALP PR *et al.*, 1976) utilizando tecido adiposo epididimal e tecido muscular do glúteo máximo. Foram utilizados aproximadamente 50 mg dos tecidos, que foram homogeneizados com a adição de 10 µL/mg de tecido para o músculo esquelético e 5 µL/mg para a gordura de tampão de extração (50 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7,4). O homogenato foi centrifugado durante 20 minutos a 1000xg (5804R, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha), a temperatura de 4° C e o sobrenadante foi utilizado para a análise. Em placa de 96 poços, foram adicionados em triplicata 5 µL (músculo) ou 10 µL (gordura) do sobrenadante, 10 µL de ácido oxalacético (10mM), e

185  $\mu\text{L}$  (para análises de músculo) ou 180  $\mu\text{L}$  (para análises de gordura) de mistura de ensaio (Tris 100 mM, DTNB 0,2 mM, Acetil-CoA 0,1 mM, Triton 1%), sempre nessa ordem. Para medida da atividade endógena, 5 ou 10  $\mu\text{L}$  de amostra e 195 ou 190  $\mu\text{L}$  de mistura de ensaio foram adicionados aos poços e para medida do branco, 10  $\mu\text{L}$  de ácido oxalacético e 190  $\mu\text{L}$  de mistura de ensaio foram adicionados aos poços. O procedimento de leitura foi feito em leitor de microplacas (Molecular Devices, Sunnyvale, EUA) em comprimento de onda 412 nm, temperatura de leitura a 25°C com intervalo entre as leituras de 5 segundos, sendo realizadas de 60 a 80 leituras. O valor do branco foi subtraído dos valores das amostras e atividade endógena e posteriormente foram construídas curvas de absorbância x tempo. Em análise visual foi selecionado o intervalo de maior inclinação da curva para cada amostra, ou seja, o intervalo que representa a atividade máxima da citrato sintase. Esse intervalo sempre ocorreu dentro do primeiro minuto de análise. A absorbância correspondente aos extremos desse intervalo foram denominadas ABS1 e ABS2 e seus respectivos tempos de T1 e T2 (ver detalhes abaixo). A atividade da citrato sintase está apresentada em  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup> e foi calculada a partir da fórmula:

$$[\frac{((\text{ABS2}-\text{ABS1})/(\text{T2}-\text{T1})) - ((\text{ABS2}'-\text{ABS2}')/(\text{T2}'-\text{T1}'))}{13,6} * (\text{volume total do ensaio}/\text{volume da amostra})] * \text{Proteína}(\text{mg}/\text{ml})$$

Onde: ABS1: absorbância 1; ABS2: absorbância 2; T1: tempo de ABS1 em minutos; T2: tempo de ABS2 em minutos; ABS1': absorbância 1 da atividade endógena; ABS2': absorbância 2 da atividade endógena; T1': tempo de ABS1 em minutos da atividade endógena; T2': tempo de ABS2 em minutos da atividade endógena; Volume total ensaio = 200  $\mu\text{L}$ ; Volume amostra = 5 ou 10  $\mu\text{L}$  (dependente do tecido utilizado).

#### 4.6.3 Concentração muscular de glicogênio

Para determinação da concentração de glicogênio muscular foram utilizados extratos de tecido muscular do gastrocnêmio de acordo com método descrito por Ferraresi *et al.* (2014). Aproximadamente 50 mg de tecido foi adicionado 1 mL de KOH 6 N em um tubo de ensaio, que foi aquecido em banho-maria fervente por cerca de 5 minutos para digestão do tecido. O sobrenadante foi retirado e colocado em novo tubo e a ele foram adicionados 3 mL de Etanol PA (100%). A mistura foi agitada energeticamente por meio de um vórtex. Após foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de Sulfato de Potássio (10%,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ). A mistura foi então centrifugada (5804R, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha) a 4000xg por 3 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensionado em 0,5 mL de água destilada e homogeneizado em

vórtex. Foram adicionados então 0,5 mL de fenol (4,1%) e 2 ml de ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para a reação colorimétrica, sendo homogeneizado manualmente e resfriado imediatamente. A absorbância foi determinada em leitor espectrofotômetro (Bel SPECTRO S-2000) a 480 nm. O conteúdo de glicogênio das amostras foi calculado a partir da construção de curva padrão utilizando-se glicose. O conteúdo de glicogênio foi normalizado pelo peso da amostra (em mg) e está apresentado em µg/mg.

#### 4.6.4 Conteúdo e fosforilação de proteínas - Western Immunoblot

Por meio de Western ImunoBlotting (SILVA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020) foram analisados o conteúdo e a fosforilação de proteínas no tecido muscular. Foram utilizadas aproximadamente 50 mg de tecido muscular gastrocnêmio, homogeneizados com a adição de 100 µL de tampão de lise (1 % Triton X100; 100 mM Tris pH 8.0, 20 % glicerol, 0.2 mM EDTA) contendo coquetel inibidor de protease (Complete Protease Inibidor Cocktail, Roche, Germany) e coquetel inibidor de fosfatase (Phosphatase Inhibitor Cocktail PhosStop, Roche, Germany). O conteúdo lisado foi centrifugado a 1200xg (5804R, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha), durante 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante (porção citoplasmática) contendo as proteínas de interesse foi coletado. Empregando-se a técnica de Bradford (1976) foi analisada a concentração de proteínas nos extratos do tecido, sendo utilizada como padrão a albumina de soro bovino (BSA). A leitura do conteúdo de proteínas foi realizada em leitor de microplacas (Molecular Devices, Sunnyvale, EUA) no comprimento de onda de 595 nm. Ao sobrenadante foi adicionado tampão de Laemmli 4x (SDS 2%; glicerol 20%; EDTA 200 mM; Tris 1M, pH 6.8; azul de bromofenol; ditiotretitol 10%), e aquecidos a 95° C por 5 minutos. Das amostras, aproximadamente 100 µg de proteínas totais foram distribuídas em gel de poliacrilamida (10%) contendo duodecil sulfato de sódio (20%) (SDS-PAGE). Foram aplicados aos géis cerca de 6 µl de um padrão determinante de peso molecular (Page Ruler Protein Ladder, Fermentas, EUA). O procedimento de eletroforese foi realizado por aproximadamente 3 horas a uma voltagem de 50 e 80 volts (Bio-Rad, Mini-Protean Tetra Cell Systems, Hercules, EUA). As proteínas foram transferidas para membranas de difluoreto de polivinilideno (PVDF - Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) previamente ativadas com metanol e acomodadas em recipiente contendo tampão de transferência (Tris 25 mM, glicina 192 mM, metanol 10%). O processo de transferência foi realizado a uma voltagem constante de 80 volts e amperagem máxima de 1,5 mA durante 100 minutos (Bio-Rad, Power Pac Basic Power Supply, Hercules, EUA). Em seguida as membranas foram coradas com Ponceau 0,1% para análise da qualidade do

procedimento. Depois as membranas foram lavadas para retirada total do corante e levadas ao bloqueio com BSA 10% em tampão contendo Tris salina (TBS)-tween 0,1% (NaCl 5M, Tris 1M, pH 7,6 e tween-20 0,1%), por 2 horas em temperatura ambiente, sob agitação. As membranas foram lavadas 3 vezes por 5 min com TBS-tween 0,1% e incubadas com anticorpos primários (1:1000) a 4°C, sob agitação leve, *overnight*. Após a retirada do anticorpo primário as membranas foram lavadas novamente em TBS-tween 0,1%, 3 vezes, 5 min, e incubadas por 120 minutos com o anticorpo secundário (1:5000) em temperatura ambiente e sob agitação. A relação dos anticorpos utilizados está descrita na tabela 3.

**Tabela 3 - Relação dos anticorpos utilizados para detecção das proteínas do tecido muscular gastrocnêmio**

<b>Anticorpo</b>	<b>Tipo</b>	<b>Fonte</b>	<b># Catálogo</b>
Phospho-Akt (Ser473)	Policlonal	Coelho	GTX128414***
Hsp70/Hsp72 mAb (C96F3-3)	Monoclonal	Camundongo	8132**
Anti-rabbit IgG	-	Cabra	7074*
Anti-mouse IgG	-	Cavalo	7076*
GAPDH (14C10)	Monoclonal	Coelho	2118*

\*Cell Signaling. \*\*Enzo Life Sciences. \*\*\*GeneTex.

Após serem devidamente lavadas, por 5 min com TBS-tween 0,1%, as membranas foram incubadas em solução Luminata Forte (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). O sinal gerado pelas bandas foi captado por sistema de fotodocumentação (Loccus Biotecnologia, Cotia, Brasil) e a quantificação realizada com o auxílio do software ImageJ (1.45s, Wayne Rasband do Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland). A proteína GAPDH foi utilizada como normalizadora para as proteínas analisadas.

#### 4.7 Análise estatística

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

grupos foi utilizada análise de variância com duas fontes de variação, sendo dieta (HFD ou chow) e treinamento físico (Tre ou Sed) (ANOVA Two Way). 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<sup>s</sup>**

### **5.1 Resultados de Costa (2018)**

Com intuito único de contextualizar os resultados do presente estudo, alguns resultados do estudo de Costa (2018) serão reportados, mas não serão discutidos. O treinamento físico aumentou a força máxima dos animais dos grupos treinados em relação aos seus respectivos controles. No entanto, não houve diferença entre os grupos treinados. Os grupos treinados apresentaram aumento na área de miócitos do glúteo máximo e do quadríceps, condizente com hipertrofia induzida pelo treinamento de força. Não houve diferenças entre os grupos treinados na hipertrofia. Os animais do grupo Sed-HFD apresentaram intolerância à glicose que foi parcialmente revertida no grupo Tre-HFD. Os animais do grupo Sed-HFD tiveram aumento na área dos adipócitos epididimais, o que foi parcialmente revertido no grupo Tre-HFD. Em conjunto, os dados mostram que o treinamento de força empregado foi efetivo em aumentar a força máxima e a hipertrofia muscular nos grupos treinados e em melhorar a tolerância à glicose e área dos adipócitos epididimais no grupo tratado com dieta hiperlipídica. Com base nesses resultados, e dando continuidade utilizamos amostras provenientes daquele estudo para analisarmos a resistência à insulina, a função mitocondrial no tecido muscular e adiposo, a concentração de glicogênio muscular, e proteínas envolvidas com a resistência à insulina no tecido muscular esquelético.

### **5.2 Concentração sérica de insulina e HOMA-IR**

A tabela 4 apresenta a concentração sérica de insulina e a resistência à insulina avaliada pelo índice HOMA-IR. Os dados de glicemia são apresentados como suporte para o cálculo do índice HOMA-IR e para apresentação mais completa de variáveis ligadas ao metabolismo da glicose. Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram glicemia maior em relação aos controles, independentemente do estado de treinamento. A dieta hiperlipídica causou hiperinsulinemia no grupo Sed-HFD, que foi revertida pelo treinamento no grupo Tre-HFD. Os dados referentes à insulina apresentaram o mesmo comportamento que a resistência à insulina. Esses resultados sugerem que o treinamento foi capaz de reverter a hiperinsulinemia e a resistência à insulina causada pela dieta hiperlipídica.

**Tabela 4 – Glicemia, concentração sérica de insulina e HOMA-IR.**

Grupo	Glicemia (mg/dL)	Insulina (ng/mL)	HOMA-IR
Sed-Chow	118,0±11,9	1,37±0,31	1,00±0,24
Tre-Chow	118,3±12,0	1,37±0,16	1,02±0,13
Sed-HFD	150,8±22,7*	2,70±1,12*	2,59±1,34*
Tre-HFD	158±13,1 <sup>#</sup>	1,75±0,37 <sup>\$</sup>	1,69±0,36 <sup>\$</sup>

Dados em média ± desvio padrão. Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=12), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=12), Sed-HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (n=12), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (n=12), HOMA-IR = modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina. \*p<0,05 vs Sed-Chow; <sup>#</sup>p<0,05 vs Tre-Chow; <sup>\$</sup>p<0,05 vs Sed-HFD.

### 5.3 Atividade da citrato sintase

O treinamento aumentou a atividade da citrato sintase no tecido muscular no grupo Tre-Chow em comparação ao Sed-Chow e no grupo Tre-HFD em comparação ao grupo Sed-HFD. No entanto, a dieta hiperlipídica atenuou o aumento da atividade da citrato sintase causado pelo treinamento.

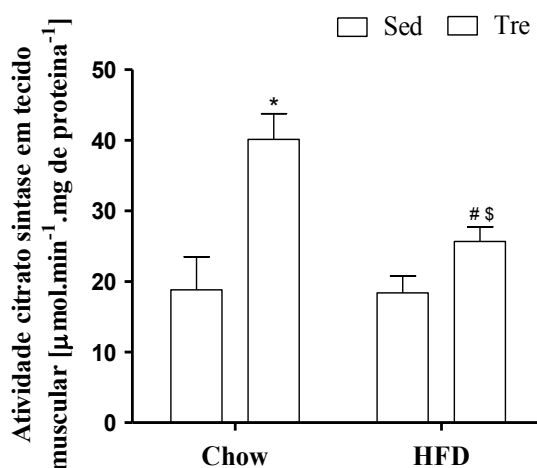


Figura 6: Atividade citrato sintase em tecido muscular glúteo máximo. Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=8), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=5), Sed-HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (n=7), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (n=8). Dados em média ± desvio padrão. \*p<0,05 vs Sed-Chow; <sup>#</sup>p<0,05 vs Tre-Chow; <sup>\$</sup>p<0,05 vs Sed-HFD.

Não foram identificados efeitos do estado de treinamento sobre a atividade da citrato sintase na gordura epididimal, embora tenhamos observado efeito da dieta em reduzir a atividade dessa enzima (p<0,05) (figura 7).

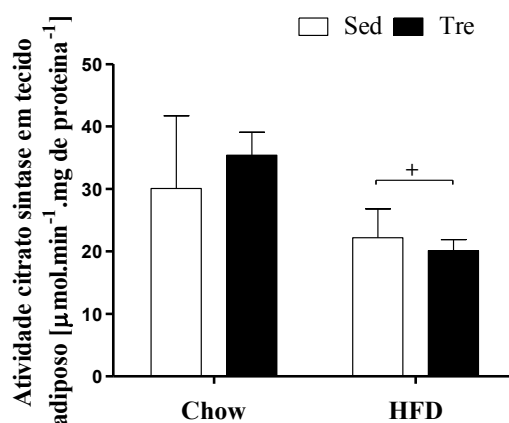


Figura 7: Atividade citrato sintase em tecido adiposo epididimal. Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=9), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=6), Sed-HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (n=11), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (n=7). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. + p<0,05 vs Chow.

### 5.3 Concentração de glicogênio muscular

O grupo Tre-Chow apresentou concentração muscular de glicogênio mais baixa que os demais grupos. Não foram observadas outras diferenças (figura 8).

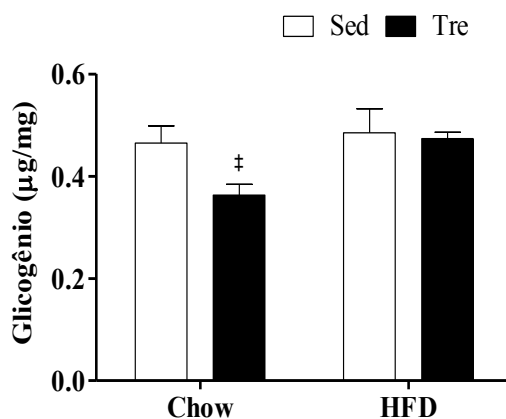


Figura 8: Concentração de glicogênio no músculo gastrocnêmio. Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=10), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=11), Sed-HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (n=10), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (n=8). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. ‡ p<0,05 vs demais grupos.

### 5.4 Análise de proteínas do tecido muscular gastrocnêmio

Na figura 9 estão representados os dados referentes ao conteúdo de p-Akt no tecido muscular gastrocnêmio. Houve um aumento não significativo (p=0,12) na fosforilação da Akt induzida pela insulina no grupo Tre-Chow em comparação ao grupo Sed-Chow. Houve uma redução não significativa (p=0,14) na fosforilação da Akt induzida pela insulina no



grupo Sed-HFD em comparação ao grupo Sed-Chow. Houve uma maior fosforilação da Akt induzida pela insulina no grupo Tre-HFD em comparação ao grupo Sed-HFD.

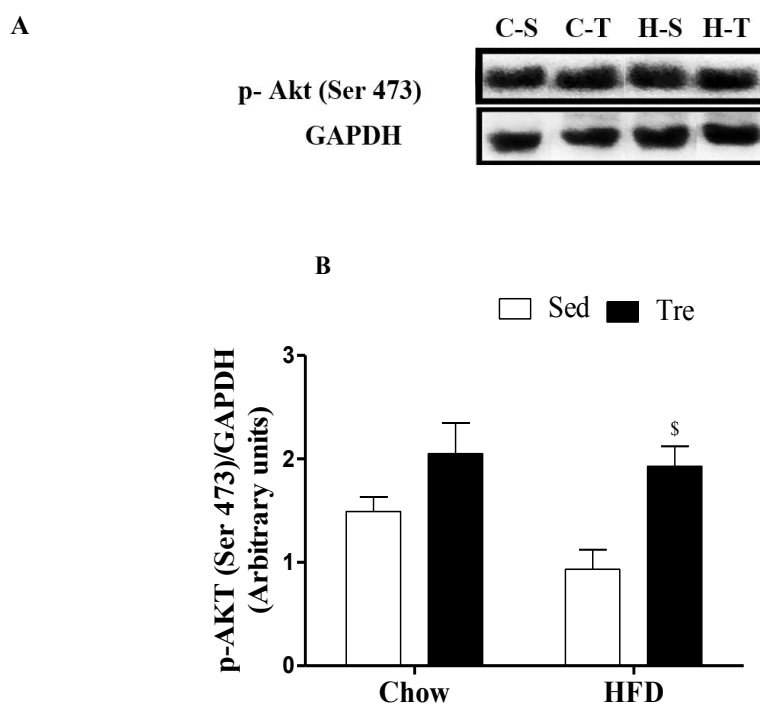


Figura 9: Blots representativos (A) e conteúdo de p-Akt no músculo gastrocnêmio (B). Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=5), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=4), Sed-HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (n=3), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (n=3). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. <sup>s</sup>p<0,05 vs Sed-HFD.

Na figura 10 estão representados os dados referentes ao conteúdo de Hsp72 no tecido muscular gastrocnêmio. A dieta hiperlipídica levou a redução do conteúdo de Hsp72 no grupo Sed-HFD e o treinamento foi eficaz em reverter essa diminuição no grupo Tre-HFD.

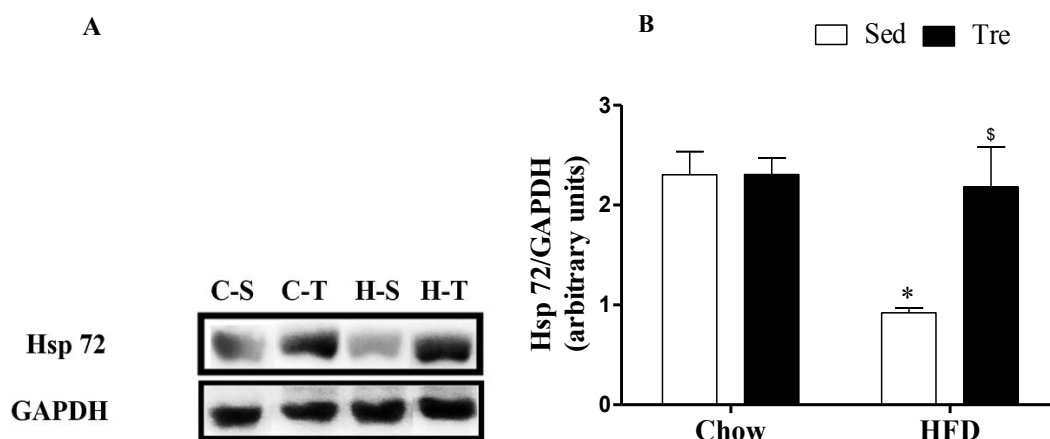


Figura 10: Blots representativos(A) e conteúdo de Hsp 72 em tecido muscular gastrocnêmio (B). Sed-Chow = sedentário alimentado com ração (n=6), Tre-Chow = treinado alimentado com ração comercial (n=6), Sed-

HFD = sedentário alimentado com dieta hiperlipídica (**n=7**), Tre-HFD = treinado alimentado com dieta hiperlipídica (**n=7**). Dados em média  $\pm$  desvio padrão. \* $p < 0,05$  vs Sed-Chow; <sup>s</sup> $p < 0,05$  vs Sed-HFD.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os efeitos de um protocolo de treinamento de força em escada para camundongos alimentados com dieta hiperlipídica sobre parâmetros bioquímicos e moleculares que estão envolvidos na resistência à insulina relacionada à obesidade. O principal achado deste estudo é que o treinamento de força em escada foi suficiente para reverter parcialmente a hiperinsulinemia e a resistência à insulina causada pela dieta hiperlipídica. Além disso, aumentou a atividade citrato sintase nos grupos treinados em relação aos sedentários, diminuiu os níveis de glicogênio muscular no grupo treinado não alimentado com dieta hiperlipídica, aumentou a fosforilação da Akt induzida pela insulina e reverteu a diminuição da expressão de Hsp72 no grupo alimentado com dieta hiperlipídica.

Em nosso estudo o treinamento de força em escada amenizou os efeitos da dieta, sendo capaz de reverter a hiperinsulinemia e a resistência à insulina causada pela dieta hiperlipídica. Utilizamos no presente estudo o índice (HOMA-IR) para avaliar a resistência à insulina. Esse índice é um modelo matemático desenvolvido por Matthews *et al.* (1985) que inclui interações entre a concentração de insulina e glicose plasmática em jejum. Investigações sobre a utilização do índice HOMA1-IR diagnosticaram que esse teste é um importante meio de identificação da sensibilidade periférica à insulina (EMOTO *et al.*, 1999; BONORA *et al.*, 2000). Nossos resultados se aproximam de vários estudos com exercício físico, dentre eles Marinho *et al.* (2014) e Oliveira *et al.* (2016) que demonstram melhoras no metabolismo da glicose com a prática de exercícios. Outros trabalhos com treinamento de força, obtiveram resultados semelhantes ao nosso estudo. Recentemente Guedes *et al.* (2020) utilizaram um protocolo de subida em escada para camundongos Swiss alimentados com dieta hiperlipídica, com 3 formas de treinamento, treinamento para hipertrofia, treinamento para resistência muscular e treinamento de força. Como resultado, identificaram que os protocolos foram igualmente apropriados na redução do peso corporal, no índice de adiposidade, na área dos adipócitos, na inflamação crônica e ainda foram eficazes na melhora da resistência à insulina. Em humanos, Ismail *et al.* (2019) investigaram os efeitos de 6 semanas de treinamento de força em homens com sobrepeso, realizados a 80% de 1RM, apenas uma única série até a falha. Foi identificado que o exercício realizado foi eficaz em promover a melhora da ação da insulina em corpo inteiro. Portanto, esses estudos e nossos resultados evidenciam que o treinamento de força melhora o metabolismo de glicose no contexto da obesidade por meio do aumento da sensibilidade à insulina.

Estudos mostraram menor expressão de genes mitocondriais em indivíduos resistentes à insulina (HEILBRONN *et al.*, 2007) e diminuição da atividade destas enzimas como a citrato sintase em obesos e diabéticos (HULVER *et al.*, 2002), evidenciando o papel das mitocôndrias na resistência à insulina e DM2. O treinamento de força tem sido sugerido como meio eficaz em estimular a sinalização de mecanismos presentes no músculo esquelético para geração da biogênese mitocondrial (WILKINSON *et al.*, 2008; VISSING *et al.*, 2013). Como revisado por Hawley *et al.* (2018), o treinamento de força promove agudamente a expressão de mRNA de vários genes envolvidos no metabolismo e no processo de biogênese. Nesse sentido, Lee *et al.* (2018) mostraram que o treinamento de subida em escada em ratos aumentou a função e biogênese mitocondrial. Sendo a análise da atividade da enzima citrato sintase utilizada como marcador do metabolismo oxidativo e do conteúdo mitocondrial (HOOD *et al.*, 2016), nosso estudo avaliou a atividade desta enzima em tecido muscular glúteo máximo e nossos resultados demonstram aumento da atividade da citrato sintase induzida pelo treinamento de força no tecido muscular. Nossos resultados estão de acordo com os de Tang, Hartman e Phillips (2006) que encontraram aumento da atividade da enzima citrato sintase em músculo de humanos submetidos a 12 semanas de treinamento de força, e com os de Braith *et al.* (2005) que identificaram aumento da atividade da citrato sintase em músculo esquelético de pacientes cardíacos transplantados, após 6 meses de treinamento de força. Em conjunto, esses resultados sugerem que o exercício de força é capaz de aumentar a função mitocondrial medida pela atividade da citrato sintase, o que pode ajudar a explicar a melhora da resistência à insulina que observamos no presente estudo.

No presente estudo a atividade da citrato sintase no tecido adiposo epididimal foi reduzida pela dieta hiperlipídica, mas não foi alterada pelo estado de treinamento. A redução da atividade da citrato sintase no tecido adiposo em resposta a dieta hiperlipídica evidencia que a atividade mitocondrial nesse tecido também é afetada pela sobrecarga lipídica, e que essa redução na atividade mitocondrial no tecido adiposo participa na patogênese da resistência à insulina (HEINONEN *et al.*, 2015; KUSMINSKI; SCHERER 2012). Em sua maioria, os estudos relacionados a esta enzima e o treinamento de força são realizados em homogenatos de tecido muscular esquelético (LEE *et al.*, 2018; TANG, HARTMAN; PHILLIPS, 2006; TESCH; THORSSON; COLLIANDER, 1990; WANG *et al.*, 1993; WILKINSON *et al.*, 2008; PORTER *et al.*, 2015), e não encontramos na literatura estudo que tenha investigado a atividade da citrato sintase em tecido adiposo em resposta ao

treinamento de força. Portanto, nossos resultados são originais na literatura e auxiliam no esclarecimento do papel do treino de força sobre o metabolismo mitocondrial no tecido adiposo.

A resistência à insulina interfere diretamente na captação de glicose pelo músculo, o que poderia se traduzir em redução da síntese de glicogênio (LOWELL; SHULMAN, 2005). Por outro lado, o treinamento de força aumenta as concentrações de glicogênio, como demonstra o estudo de Castaneda *et al.* (2002) no qual indivíduos idosos com DM2 foram submetidos a 16 semanas de treinamento de força e foi identificado aumento de 31% no armazenamento do glicogênio muscular. Portanto, no contexto da resistência à insulina, o treinamento de força poderia reverter ou atenuar a redução do glicogênio no tecido muscular. Diante desse modelo, esperávamos que houvesse aumento das concentrações de glicogênio no grupo Tre-Chow, redução do glicogênio no Sed-HFD e reversão ou atenuação dessa redução no grupo Tre-HFD. No entanto, não houve redução no grupo Sed-HFD. Provavelmente este contexto se deu pelo fato de o quadro de resistência à insulina instalado nos camundongos do nosso estudo não ter sido suficiente para causar redução da captação de glicose, pois embora o tecido muscular estivesse resistente à ação da insulina, ele ainda era capaz de captar glicose, embora para isso necessitasse de maior concentração de insulina agindo sobre o músculo. Além disso, não observamos aumento da concentração de glicogênio muscular com o treinamento de força no grupo Tre-chow. Nossos resultados foram similares ao estudo de Ferraresi *et al.* (2014) onde, após o treinamento de força em escada em camundongos Balb/c, não foi observado aumento nos níveis de glicogênio muscular no grupo treinado se comparado ao grupo sedentário. Portanto, embora fosse esperado o aumento como observado em humanos por Castaneda *et al.* (2002), em estudo com a mesma linhagem animal, protocolo de subida em escada similar ao nosso e o mesmo método para avaliar o glicogênio não foi observado aumento. Finalmente, no presente estudo observamos que o grupo Tre-Chow apresentou concentração muscular de glicogênio mais baixa que os demais grupos, diferentemente do esperado. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Ferraresi *et al.* (2014), no qual, embora não tenha havido diferença estatística, houve uma diferença relativamente grande entre os dados do grupo treinado e o grupo sedentário, sendo observada uma redução percentual de 48%, no mesmo sentido dos nossos dados em que observamos uma redução de 22%, ou seja, o grupo treinado apresentou uma redução do glicogênio. Esse achado foi inesperado e não temos uma hipótese para explicar tal redução do glicogênio no grupo Tre-Chow. Talvez essa variação esteja dentro

de uma faixa biológica, dentro da qual não há diferença funcional para camundongos Balb/c, embora essa hipótese necessite ser testada.

No presente estudo foi observada melhora na resistência à insulina e aumento da atividade mitocondrial nos animais alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos ao treinamento de força. No estudo de Costa (2018) foi observada melhora na tolerância à glicose nesses mesmos animais. Portanto, foram investigadas as alterações proporcionadas pelo treinamento de força em escada relacionadas a via de sinalização da insulina a partir da fosforilação da Akt, proteína central nesta via. Observamos um aumento na fosforilação da Akt induzida pela insulina no tecido muscular gastrocnêmio nos animais Tre-HFD em comparação ao grupo Sed-HFD. Ainda que não significativo, o grupo Tre-Chow demonstrou uma tendência ao aumento da fosforilação da Akt em comparação ao Sed-Chow. Esses achados estão de acordo com os de Tang *et al.* (2014) que também observaram em resposta ao treinamento de força em escada em ratos, aumento da fosforilação da Akt, além de aumento conteúdo de Glut4. Recentemente, Cui *et al.* (2020) também demonstraram a eficácia do treinamento de força em camundongos a partir do aumento da fosforilação da Akt e maior translocação de Glut4, promovendo melhor captação de glicose no corpo inteiro e aumento da sensibilidade à insulina no músculo esquelético. Todos esses resultados sugerem que o treinamento de força é capaz de melhorar a resistência à insulina, provavelmente por aumentar a ativação da via de sinalização da insulina no músculo esquelético.

Em nosso estudo observamos uma redução do conteúdo da proteína de choque térmico Hsp72 ocasionada pelo consumo de dieta hiperlipídica, no entanto o treinamento de força em escada foi eficaz em reverter essa redução. Apesar de estudos que relacionem o treinamento de força e a expressão da Hsp72 sejam pouco encontrados na literatura, alguns estudos têm sugerido o papel benéfico desta relação. No estudo de Steinacker *et al.* (2004) foi identificado que o exercício é um estressor capaz de induzir a síntese de proteínas de choque térmico, tornando a célula mais resistente a futuros estressores prejudiciais. Em humanos o treinamento de força tem demonstrado ser eficaz em aumentar a expressão de Hsp 70 no músculo esquelético, como avaliado por Reichsman *et al.* (1991) que observaram níveis elevados no músculo esquelético de humanos submetidos a protocolos de treinamento de força.

Alguns estudos buscaram elucidar os efeitos das proteínas de choque térmico Hsp72 no controle da obesidade e da melhora da resistência à insulina. Chung *et al.* (2008)

investigaram a interferência da expressão da Hsp72 no músculo esquelético na redução da resistência à insulina. No estudo, a expressão da Hsp72 foi induzida no músculo esquelético de animais obesos resistentes à insulina por diferentes meios: exposição ao calor (41.5°C de temperatura interna, uma vez por semana, durante 16 semanas), indução farmacológica da Hsp72 (administração do derivado de hidroxilamina, BGP-15, durante 15 dias) ou superexpressão gênica da Hsp72. O aumento na expressão de Hsp72 protegeu os camundongos contra a resistência à insulina, além de impedir alterações na gordura corporal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica. Portanto, é possível que no presente estudo a dieta hiperlipídica tenha contribuído para a redução da Hsp72, o que favoreceu o acúmulo de gordura e o desenvolvimento da resistência à insulina. O treinamento de força aumentou o conteúdo de Hsp72, o que pode ter auxiliado, ao menos parcialmente, para reverter a resistência à insulina nesses animais.

## **7 CONCLUSÃO**

Concluimos que o treinamento de força em camundongos Balb/c alimentados com dieta hiperlipídica promoveu diminuição da resistência à insulina a partir da modulação da via de sinalização da insulina e do conteúdo de Hsp72, além da melhora na função mitocondrial no tecido muscular.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA - American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 20:1183-97, 1997.

ALP, P. R.; NEWSHOLME, E. A.; ZAMMIT, V. A. Activities of citrate synthase and NAD<sup>+</sup>-linked and NADP<sup>+</sup>-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. **Biochemical Journal**, v. 154, n. 3, p. 689-700, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8036/>.

ARORA, Ekta et al. Effects of resistance training on metabolic profile of adults with type 2 diabetes. **Indian Journal of Medical Research**, v. 129, n. 5, p. 515, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19675378/>.

BACCHI, Elisabetta et al. Metabolic effects of aerobic training and resistance training in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled trial (the RAED2 study). **Diabetes care**, v. 35, n. 4, p. 676-682, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22344613/>.

BANITALEBI, Ebrahim et al. Effects of sprint interval or combined aerobic and resistance training on myokines in overweight women with type 2 diabetes: A randomized controlled trial. **Life sciences**, v. 217, p. 101-109, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30508516/>.

BERG, Ole Kristian et al. Skeletal muscle mitochondrial adaptations to maximal strength training in older adults. **The Journals of Gerontology: Series A**, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32253421/>.

BERGERON, Raynald et al. Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 281, n. 6, p. E1340-E1346, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11701451/>.

BLOCH-DAMTI, Asnat; BASHAN, Nava. Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. **Antioxidants & redox signaling**, v. 7, n. 11-12, p. 1553-1567, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16356119/>.

BONORA, Enzo et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes care**, v. 23, n. 1, p. 57-63, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10857969/>.

BONNARD, Charlotte et al. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 118, n. 2, p. 789-800, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18188455/>.

BOULÉ, N. G. et al. Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 46, n. 8, p. 1071-1081, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12856082/>.

BOULINGUIEZ, Alexis et al. Mitochondria and endoplasmic reticulum: Targets for a better insulin sensitivity in skeletal muscle?. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1862, n. 9, p. 901-916, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28529179/>.

BRASIL, Vigitel et al. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Ministério da Saúde**, 2019.

BRAITH, Randy W. et al. Effect of resistance exercise on skeletal muscle myopathy in heart transplant recipients. **The American journal of cardiology**, v. 95, n. 10, p. 1192-1198, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15877992/>.

BUETTNER, R. et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. **J Mol Endocrinol**, v. 36, n. 3, p. 485-501, Jun 2006. ISSN 0952-5041 (Print) 0952-5041 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16720718> >.

CARDOSO, Ariel R.; KAKIMOTO, Pâmela AHB; KOWALTOWSKI, Alicia J. Diet-sensitive sources of reactive oxygen species in liver mitochondria: role of very long chain acyl-CoA dehydrogenases. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e77088, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3792056/>.

CARTEE, Gregory D. AMPK-TBC1D4-Dependent Mechanism for Increasing Insulin Sensitivity of Skeletal Muscle. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 1901-1903, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25999533/>.

CASTANEDA, Carmen et al. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 25, n. 12, p. 2335-2341, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12453982/>.

CAUZA, Edmund et al. The relative benefits of endurance and strength training on the metabolic factors and muscle function of people with type 2 diabetes mellitus. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 86, n. 8, p. 1527-1533, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16084803/>.

CEFALU, W. T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 226, n. 1, p. 13-26, Jan 2001. ISSN 1535-3702 (Print) 1535-3699 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11368233>.

CHUNG, J. et al. HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 5, p. 1739-44, Feb 5 2008. ISSN 1091-6490 (Electronic) 0027-8424 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18223156>.

CODELLA, Roberto et al. May the force be with you: why resistance training is essential for subjects with type 2 diabetes mellitus without complications. **Endocrine**, v. 62, n. 1, p. 14-25, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29730785>.

COSTA, Juliana Sales Rodrigues. **Efeitos de um protocolo de exercício de subida em escada em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica**. Orientador: Flávio de Castro Magalhães. 2018. 69. f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) -Faculdade de ciências Biológicas e da Saúde. Universidade federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, 2018.

CUI, Di et al. A novel voluntary weightlifting model in mice promotes muscle adaptation and insulin sensitivity with simultaneous enhancement of autophagy and mTOR pathway. **The FASEB Journal**, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32304342/>.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends Immunol**, v. 25, n. 1, p. 4-7, Jan 2004. ISSN 1471-4906 (Print) 1471-4906 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698276>.

DE FARIAS, J. M. et al. Effect of physical training on the adipose tissue of diet-induced obesity mice: interaction between reactive oxygen species and lipolysis. **Hormone and metabolic research**, v. 45, n. 03, p. 190-196, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22972182/>.

DEFRONZO, Ralph A. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. **Diabetes reviews**, v. 5, p. 177-266, 1997.

DOMINY, John E.; PUIGSERVER, Pere. Mitochondrial biogenesis through activation of nuclear signaling proteins. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 5, n. 7, p. a015008, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23818499/>.

DUVAL, Carine et al. Overexpression of mitochondrial uncoupling protein-3 does not decrease production of the reactive oxygen species, elevated by palmitate in skeletal muscle

cells. **FEBS letters**, v. 581, n. 5, p. 955-961, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17303124/>

ELY, Brett R. et al. Heat therapy improves glucose tolerance and adipose tissue insulin signaling in polycystic ovary syndrome. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 317, n. 1, p. E172-E182, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31136202/>.

EMOTO, Masanori et al. Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. **Diabetes care**, v. 22, n. 5, p. 818-822, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10332688/>.

FERRARESI, C. et al. Light-emitting diode therapy in exercise-trained mice increases muscle performance, cytochrome c oxidase activity, ATP and cell proliferation. **J Biophotonics**, v. 8, n. 9, p. 740-54, Sep 2014. ISSN 1864-0648 (Electronic) 1864-063X (Linking). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25378263?>

GJØVAAG, Terje F.; VIKNE, Harald; DAHL, Hans A. Effect of concentric or eccentric weight training on the expression of heat shock proteins in m. biceps brachii of very well trained males. **European journal of applied physiology**, v. 96, n. 4, p. 355-362, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16284787/>.

GUEDES, Janesca Mansur et al. Muscular resistance, hypertrophy and strength training equally reduces adiposity, inflammation, and insulin resistance in mice with diet-induced obesity. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31553356/>.

GUTIÉRREZ-RODELO, Citlaly; ROURA-GUIBERNA, Adriana; OLIVARES-REYES, Jesús Alberto. Molecular mechanisms of insulin resistance: An update. **Gac Med Mex**, v. 153, n. 2, p. 197-209, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28474708/>.

HAWLEY, John Alan; LESSARD, S. J. Exercise training-induced improvements in insulin action. **Acta physiologica**, v. 192, n. 1, p. 127-135, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18171435/>.

HAWLEY, John A. et al. Maximizing cellular adaptation to endurance exercise in skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 27, n. 5, p. 962-976, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29719234/>.

HEILBRONN, Leonie K. et al. Markers of mitochondrial biogenesis and metabolism are lower in overweight and obese insulin-resistant subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 4, p. 1467-1473, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17244782/>.

HEINONEN, Sini et al. Impaired mitochondrial biogenesis in adipose tissue in acquired obesity. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3135-3145, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25972572/>.

HIRABARA, Sandro M.; CURI, Rui; MAECHLER, Pierre. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. **Journal of cellular physiology**, v. 222, n. 1, p. 187-194, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19780047/>.

HOLLOSZY, John O.; BOOTH, Frank W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. **Annual review of physiology**, v. 38, n. 1, p. 273-291, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/130825/>.

HOOD, David A. et al. Unravelling the mechanisms regulating muscle mitochondrial biogenesis. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 15, p. 2295-2314, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27470593/>.

HOOVER, Philip L. Hot-tub therapy for type 2 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 12, p. 924-925, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10498473/>.

HOWLETT, Kirsten F. et al. Insulin signaling after exercise in insulin receptor substrate-2-deficient mice. **Diabetes**, v. 51, n. 2, p. 479-483, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11812758/>.

HULVER, Matthew W. et al. Skeletal muscle lipid metabolism with obesity. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 284, n. 4, p. E741-E747, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12626325/>.

ISMAIL, Ahmad D. et al. The effect of short-duration resistance training on insulin sensitivity and muscle adaptations in overweight men. **Experimental physiology**, v. 104, n. 4, p. 540-545, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30697876/>.

JANG, H. J. et al. Glutamine induces heat-shock protein-70 and glutathione expression and attenuates ischemic damage in rat islets. In: **Transplantation proceedings**. Elsevier, 2008. p. 2581-2584.

JORGE, Maria Luiza Mendonça Pereira et al. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v. 60, n. 9, p. 1244-1252, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21377179/>.

KELLEY, George A.; KELLEY, Kristi S. Impact of progressive resistance training on lipids and lipoproteins in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Preventive medicine**, v. 48, n. 1, p. 9-19, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19013187/>.

\_\_\_\_\_. Effects of exercise in the treatment of overweight and obese children and adolescents: a systematic review of meta-analyses. **Journal of obesity**, v. 2013, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24455215/>.

KIANG, Juliann G.; TSOKOS, George C. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. **Pharmacology & therapeutics**, v. 80, n. 2, p. 183-201, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9839771/>.

KIM, Jason K.; WI, Jae K.; YOUN, Jang H. Metabolic impairment precedes insulin resistance in skeletal muscle during high-fat feeding in rats. **Diabetes**, v. 45, n. 5, p. 651-658, 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8621018/>.

KRISAN, Adam D. et al. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. **Journal of applied physiology**, v. 96, n. 5, p. 1691-1700, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14707149/>.

KUSMINSKI, Christine M.; SCHERER, Philipp E. Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue. **Trends in endocrinology & metabolism**, v. 23, n. 9, p. 435-443, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22784416/>.

LEE, Hojun et al. A cellular mechanism of muscle memory facilitates mitochondrial remodelling following resistance training. **The Journal of Physiology**, v. 596, n. 18, p. 4413-4426, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30099751/>.

LIM, C. H. et al. Resistance exercise-induced changes in muscle metabolism are load-dependent. **Med Sci Sports Exerc**, v. 51, p. 2578-2585, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31306302/>.

LIU, Yuefei et al. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 1, p. 101-104, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9887119/>.

LOCKE, Marius. 5 The Cellular Stress Response to Exercise: Role of Stress Proteins. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 25, n. 1, p. 105-136, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9213090/>.

LOWELL, Bradford B.; SHULMAN, Gerald I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. **Science**, v. 307, n. 5708, p. 384-387, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15662004/>.

MAGALHAES, F. C. et al. Heat and exercise acclimation increases intracellular levels of Hsp72 and inhibits exercise-induced increase in intracellular and plasma Hsp72 in humans. **Cell Stress Chaperones**, v. 15, n. 6, p. 885-95, Nov 2010. ISSN 1466-1268 (Electronic) 1355-8145 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20414820>.

MARINHO, R. et al. Effects of different intensities of physical exercise on insulin sensitivity and protein kinase B/Akt activity in skeletal muscle of obese mice. **Einstein (Sao Paulo)**, v. 12, n. 1, p. 82-9, Jan-Mar 2014. ISSN 2317-6385 (Electronic) 1679-4508 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24728251>.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3899825/>.

MEEEX, Ruth CR et al. Restoration of muscle mitochondrial function and metabolic flexibility in type 2 diabetes by exercise training is paralleled by increased myocellular fat storage and improved insulin sensitivity. **Diabetes**, v. 59, n. 3, p. 572-579, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20028948/>.

MENKE, Andy et al. Prevalence of and trends in diabetes among adults in the United States, 1988-2012. **Jama**, v. 314, n. 10, p. 1021-1029, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26348752/>.

MEYER, T. N.; DA SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 2, p. 181-188, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10413924/>.

OLIVEIRA, Alexandre G. et al. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. **Diabetes**, v. 60, n. 3, p. 784-796, 2011.

O'NEILL, Hayley M. AMPK and exercise: glucose uptake and insulin sensitivity. **Diabetes & metabolism journal**, v. 37, n. 1, p. 1-21, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23441028/>.

PAULSEN, G. et al. Strength training elevates HSP27, HSP70 and  $\alpha$ B-crystallin levels in musculus vastus lateralis and trapezius. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 5, p. 1773-1782, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21901266/>.

PETERSEN, Kitt Falk et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. **Science**, v. 300, n. 5622, p. 1140-1142, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12750520/>.

PLOUMI, Christina; DASKALAKI, Ioanna; TAVERNARAKIS, Nektarios. Mitochondrial biogenesis and clearance: a balancing act. **The FEBS journal**, v. 284, n. 2, p. 183-195, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27462821/>.

PORTER, Craig et al. Resistance exercise training alters mitochondrial function in human skeletal muscle. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 47, n. 9, p. 1922, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25539479/>.

REICHSMAN, Frieda et al. Muscle protein changes following eccentric exercise in humans. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 62, n. 4, p. 245-250, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2044533/>.

RINDLER, Paul M. et al. Redox regulation of insulin sensitivity due to enhanced fatty acid utilization in the mitochondria. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 305, n. 5, p. H634-H643, 2013. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpheart.00799.2012>.

SCHRAUWEN, Patrick et al. Mitochondrial dysfunction and lipotoxicity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1801, n. 3, p. 266-271, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19782153/>.

SERGI, Domenico et al. Mitochondrial (dys) function and insulin resistance: From pathophysiological molecular mechanisms to the impact of diet. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 532, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6510277/>.

SHIROMA, Eric J. et al. Strength training and the risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 49, n. 1, p. 40, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27580152/>.

SILVA, Gabriela et al. Infrared photobiomodulation (PBM) therapy improves glucose metabolism and intracellular insulin pathway in adipose tissue of high-fat fed mice. **Lasers in medical science**, v. 33, n. 3, p. 559-571, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10103-017-2408-2>.

\_\_\_\_\_. et al. Insulin resistance is improved in high-fat fed mice by photobiomodulation therapy at 630 nm. **Journal of Biophotonics**, v. 13, n. 3, p. e201960140, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31707768/>.



SILVER, Jordan Thomas; NOBLE, Earl G. Regulation of survival gene hsp70. **Cell Stress and Chaperones**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21874533/>.

SIGAL, Ronald J. et al. Physical activity and diabetes. **Canadian journal of diabetes**, v. 37, p. S40-S44, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24070962/>.

SPARKS, Lauren M. et al. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 54, n. 7, p. 1926-1933, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15983191/>.

STEINACKER, Jürgen M. et al. New aspects of the hormone and cytokine response to training. **European journal of applied physiology**, v. 91, n. 4, p. 382-391, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14608461/>.

SUPLICY, Henrique L.; FIORIN, Daniela. Diabetes mellitus tipo 2. **RBM Rev. Bras. Med**, 2012.

TANG, Liang et al. Decrease in myostatin by ladder-climbing training is associated with insulin resistance in diet-induced obese rats. **Chinese medical journal**, v. 127, n. 12, p. 2342-2349, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24931254/>.

TANG, Jason E.; HARTMAN, Joseph W.; PHILLIPS, Stuart M. Increased muscle oxidative potential following resistance training induced fibre hypertrophy in young men. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 31, n. 5, p. 495-501, 2006.

TERAN-GARCIA, Margarita et al. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 288, n. 6, p. E1168-E1178, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15687108/>.

TESCH, P. A.; THORSSON, A.; COLLIANDER, E. B. Effects of eccentric and concentric resistance training on skeletal muscle substrates, enzyme activities and capillary supply. **Acta physiologica scandinavica**, v. 140, n. 4, p. 575-579, 1990. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2082717/>.

VILELA, Thais Ceresér et al. Aerobic and strength training induce changes in oxidative stress parameters and elicit modifications of various cellular components in skeletal muscle of aged rats. **Experimental gerontology**, v. 106, p. 21-27, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29471131/>.

VISSING, K. et al. Differentiated mTOR but not AMPK signaling after strength vs endurance exercise in training-accustomed individuals. **Scandinavian journal of medicine**

& *science in sports*, v. 23, n. 3, p. 355-366, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23802289/>.

WANG, Naishu et al. Muscle fiber types of women after resistance training—quantitative ultrastructure and enzyme activity. *Pflügers Archiv*, v. 424, n. 5-6, p. 494-502, 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8255733/>.

WHITE, P. A. et al. Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, v. 57, n. 5, p. 339-45, Jul 2013. ISSN 1677-9487 (Electronic) 0004-2730 (Linking). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23896799>.

WILKINSON, Sarah B. et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signaling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *The journal of physiology*, v. 586, n. 15, p. 3701-3717, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18556367/>.

WOJTASZEWSKI, Jørgen FP et al. Exercise modulates post receptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *The Journal of clinical investigation*, v. 104, n. 9, p. 1257-1264, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10545524/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global report on diabetes**. Geneva: WHO, 2016. Disponível em: <http://www.who.int/diabetes/global-report/en>.

XU, Dengqiu et al. Mitochondrial dysfunction and inhibition of myoblast differentiation in mice with high-fat-diet-induced pre-diabetes. *Journal of Cellular Physiology*, v. 234, n. 5, p. 7510-7523, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30362548/>.

YAMADA, Paulette M. et al. Effect of heat acclimation on heat shock protein 72 and interleukin-10 in humans. *Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 4, p. 1196-1204, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17615280/>.

YOSHIMURA, Tania Mateus; SABINO, Caetano Padial; RIBEIRO, Martha Simões. Photobiomodulation reduces abdominal adipose tissue inflammatory infiltrate of diet-induced obese and hyperglycemic mice. *Journal of biophotonics*, v. 9, n. 11-12, p. 1255-1262, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27635634/>.

## ANEXO A – COMPOSIÇÃO DA DIETA HIPERLIPÍDICA

A tabela 1 a seguir mostra a composição e o conteúdo nutricional da dieta utilizada

**Tabela 1 – Composição das dietas experimentais (Costa, 2018) e ração padrão**

Nutriente	Ração padrão		Dieta	
	Quantidade (g/100 g)	%VCT*	Quantidade (g/100 g)	%VCT*
Carboidratos	54,0	63,5	43,8	39,0
Proteínas	22,0	25,9	21,6	19,3
Gorduras totais	4,0	10,6	20,8	41,7
Valor energético total (kcal/100g)	340 kcal = 1422 kJ		449 kcal = 1878 KJ	

\* % do valor calórico total

**Tabela 2 – Proporção de ingredientes da dieta experimental.**

Ingrediente	Quantidade (g)
Ração padrão	200
Banha de porco	200
Xarope de milho	100
Leite em pó desnatado	500
<b>TOTAL</b>	<b>1000</b>

