Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Richard Diego Leite

Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica

Rio de Janeiro

2013

Richard Diego Leite

Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar

Coorientadora: Prof.ª Dra. Eliete Bouskela

Rio de Janeiro

2013

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

L533 Leite, Richard Diego.
Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica / Richard Diego Leite. – 2013.
99 f.

Orientador: Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar.
Coorientadora: Eliete Bouskela.
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Obesidade – Teses. 2. Tecido adiposo – Teses. 3. Gorduras na dieta – Teses. I. Aguiar, Luiz Guilherme Kraemer de. II. Bouskela, Eliete. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV Título.

CDU 616-056.52

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Richard Diego Leite

Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 18 de fevereiro de 2013.

Coorientadora: Prof.ª Dra. Eliete Bouskela
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar (Orientador)
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. Anibal Sanchez Moura
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Jonato Prestes
Universidade Católica de Brasília

Prof. Dr. Humberto Lameira Miranda
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro
2013

DEDICATÓRIA

Aos meus amados, pais José Antonio e Glória**,** e ao irmão Douglas**,** por acreditarem junto comigo nos meus ideais e mesmo com a distância nunca me deixaram fraquejar nos momentos difíceis. Por terem respeitado as minhas decisões e o meu tempo, sempre. Agradeço imensamente o apoio incondicional na realização deste sonho.

À minha "namorida" e companheira Ana Claudia por ter vivido minhas alegrias e angústias e sempre ter me transmitido esperança e otimismo nos momentos difíceis. Por ter aceitado a distância física que nos separou durante um ano, para que eu pudesse concretizar este sonho. E o mais importante por me fazer muito feliz. A sua mãe Silvia e irmã Ana Carolina pelo apoio incondicional dado durante a realização deste trabalho.

Aos comprade e comadre, Guilherme Fina Fleury Speretta e Clariana Ruy Speretta**,** por estarem sempre presentes me mostrando sempre a simplicidade e alegria de viver e pelo apoio que recebi neste período.

AGRADECIMENTOS

Algumas pessoas marcam nossas vidas para sempre. Algumas porque nos ajudam na construção de um sonho, outras porque nos apresentam oportunidades de aprendizagem e crescimento e outras ainda porque nos desafiam a construí-los. Sendo assim, a vocês meus sinceros agradecimentos.

A Deus por me abençoar todos os dias me proporcionando experiências para me tornar uma pessoa mais corajosa, paciente e forte para enfrentar os problemas e seguir em frente e principalmente pelos momentos de felicidades.

Aos meus familiares e amigos, por acreditarem junto comigo nos meus ideais e mesmo com a distância nunca me deixaram fraquejar nos momentos difíceis. Apesar da distância sempre levei vocês comigo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer De Aguiar, exemplo de dedicação, doação e dignidade, por que sinto profunda admiração, respeito e gratidão. Agradeço a você todos os ensinamentos e o cuidado para que eu sempre tomasse a melhor decisão científica e profissional. Obrigado por estar sempre presente, pelo incentivo e principalmente pelos ensinamentos.

A minha co-orientadora, Prof. Dra. Eliete Bouskela por acreditar que eu poderia atender as expectativas do laboratório, pelos ensinamentos, pelas oportunidades oferecidas, por todo o suporte necessário dado pelo BIOVASC para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos irmãos e amigos, Markus Vinicius Campos Souza e Anderson Diogo De Souza Lino**,** por estarem sempre dispostos a me ajudar, sendo fundamentais para que todo o processo de dosagens acontecesse muito rapidamente e com quem tenho o prazer de dividir experiências, objetivos e projetos de vida e pesquisa

A professora doutora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Celly Nascimento Saba e seus alunos de doutorado Aluana Santana Carlos, Carlos Alberto Soares Da Costa e Aline De Souza Santos, pelo suporte e ajuda nas medidas realizadas no tecido adiposo.

As professoras do Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Heloisa Sobreiro Selistre De Araújo e Rita De Cássia Marqueti Durigan, pela oportunidade e suporte dado nas dosagens da atividade das metaloproteinase-2 no ventrículo esquerdo.

A prof. Dra. Celene Bernardes Fernandes da Metrocamp (Campinas-SP) por se disponibilizar prontamente para realizar a dosagem do percentual de lipídios nos tecidos.

A secretária Elisa pelo amor, carinho e zelo que sempre teve por mim.

Aos colegas e funcionários do BIOVASC que de alguma maneira contribuíram para a conclusão deste trabalho.

A FAPERJ pelo apoio financeiro recebido durante a realização deste trabalho.

Gostaria de agradecer aqueles que não estão citados aqui, mas que com certeza torceram por mim e que fazem ou fizeram parte da minha vida... Levo uma parte de cada um comigo...

Serei eternamente gratos a vocês!!!

O entusiasmo é a maior força da alma. Conserva-o e nunca te faltará poder para conseguires o que desejas.

Napoleão Bonaparte

RESUMO

LEITE, Richard Diego. **Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica**. 2013. 122 f. Tese (Doutorado em Biociências) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

O consumo excessivo de gorduras tem sido implicado na gênese da obesidade e de diversas comorbidades relacionadas a esta doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica nas seguintes variáveis: composição corporal, adiposidade, área de adipócitos, expressão do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomo tipo gama (PPAR-γ) no tecido adiposo retroperitoneal, níveis pressóricos e atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2) no ventrículo esquerdo. Foram avaliados 32 ratos machos *Wistar* divididos em quatro grupos experimentais (n=8/cada) de acordo com o tipo de dieta e o treinamento: sedentário (SED; dieta padrão), sedentário obeso [SED-OB; dieta hiperlipídica (30% de gordura)], treinamento resistido (TR; dieta padrão) e treinamento resistido obeso (TR-OB; dieta hiperlipídica). Após o desmame (dia 21), os animais foram submetidos à dieta experimental durante 24 semanas. Doze semanas após início da dieta, os grupos TR e TR-OB iniciaram o período de 12 semanas de treinamento resistido. Este era composto por escaladas em uma escada vertical de 1.1 metros com pesos atados a cauda num total de três sessões de treinamento por semana (Segundas, Quartas e Sextas-feiras) com 4 a 9 escaladas/sessão e 8 a 12 movimentos dinâmicos a cada subida. O treinamento resistido induziu reduções significativas na massa corporal, na massa gorda, no percentual de gordura, na área de adipócitos e nos níveis pressóricos e ainda promoveu aumento de massa magra e na expressão de VEGF e PPAR-γ em ambos os grupos treinados. Além disso, foi observada uma maior atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo nos grupos treinados (TR e TR-OB). Nossos achados demonstram que o treinamento resistido foi capaz de promover mudanças positivas na composição corporal, na atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo, nos níveis pressóricos e em mediadores enzimáticos do tecido adiposo retroperitoneal sugerindo que esta modalidade de exercício pode ser uma ferramenta útil para prevenir as alterações induzidos pelo consumo de uma dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: Treinamento resistido. Obesidade. Tecido adiposo. Ventrículo esquerdo. Pressão arterial.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to evaluate the effect of resistance training on body composition, adiposity, adipocyte area, vascular endothelium growth factor (VEGF) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-γ) in adipose tissue, systolic and diastolic blood pressures (BP), and activity of muscle MMP-2 in left ventricle. We evaluated 32 Wistar rats divided into four experimental groups (n=8/each) according to diet and exercise status: sedentary (SED; standard diet), sedentary obese [SED-OB; hiperlipidic diet (30% of fat)], resistance training (RT; standard diet) and resistance training RT obese (RT-OB; hiperlipidic diet). After weaning (day 21), animals were subjected to the experimental diet according to their groups during 24 weeks. A 12-week resistance-training period was used, during which the animals climbed a 1.1-m vertical ladder with weights attached to their tails. The sessions were performed three times/week (Mondays, Wednesdays and Fridays), with 4–9 climbs/session and 8–12 dynamic movements/climb with two rest minutes. The RT promoted significantly reductions of body and fat masses, fat percentage, adipocytes area and systolic and diastolic BPs, associated with higher expression of VEGF and PPAR-γ in retroperitoneal adipose tissue and higher fat free mass in both trained groups. Furthermore, it was observed higher muscle MMP-2 activity of the left ventricle in trained animals. This study demonstrated that, resistance training induced positive changes in body composition, MMP-2 activity in left ventricle, systolic and diastolic BPs and adipose tissue metabolism, suggesting that it can be a useful tool to prevent the physiopathological changes induced by high-fat diet consumption.

Keywords: Resistance training. Obesity. Adipose tissue. Left ventricle. Blood pressure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aumento do tecido adiposo e liberação de adipocinas..... 21
Figura 2 - Mecanismos regulatórios da MMPs..... 23
Figura 3 - Modelo conceitual do treinamento resistido e o seu efeito potencial no dispêndio energético..... 27
Figura 4 - Relação entre massa muscular e fatores de risco de doenças cardiovasculares..... 28
Figura 5 - Aparato de treinamento utilizado por Hornberger e Farrar (2004)..... 30
Figura 6 - Descrição dos grupos experimentais..... 35
Figura 7 - Escada para treinamento resistido..... 37
Figura 8 - Protocolo para determinação da carga máxima..... 38
Figura 9 - Protocolo do treinamento resistido..... 39
Figura 10 – Evolução da carga de treinamento durante o período experimental..... 46
Figura 11 – Força relativa dos grupos treinados após o período de treinamento..... 46
Figura 12 – Densidade mineral óssea e conteúdo mineral ósseo dos grupos experimentais..... 49
Figura 13 – Conteúdo lipídico do ventrículo esquerdo..... 51
Figura 14 – Conteúdo lipídico do fígado..... 52
Figura 15 – Conteúdo lipídico do bíceps e gastrocnêmio..... 53
Figura 16 – Análise da área do tecido adiposo retroperitoneal..... 55
Figura 17 – Fotomicrografia da expressão imunohistoquímica de PPAR-gama do tecido adiposo retroperitoneal..... 56
Figura 18 - Fotomicrografia da expressão imunohistoquímica de VEGF do tecido adiposo retroperitoneal..... 57
Figura 19 – Efeito da dieta e do treinamento resistido na atividade da metaloproteinase do tipo 2 no ventrículo esquerdo..... 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição nutricional das dietas utlizadas durante o período experimental..... 36
Tabela 2 – Massa corporal dos animais durante o período experimental..... 44
Tabela 3 – Análise dietética da ingestão alimentar durante o período experimental..... 45
Tabela 4 – Análise da composição corporal antes e após o período do treinamento resistido..... 48
Tabela 5 – Efeitos da dieta hiperlipídica e treinamento de força no peso relativo dos tecidos adiposos (g/100 g da massa corporal)..... 50
Tabela 6 – Efeito da dieta hiperlipídica e treinamento resistido na pressão arterial..... 58
Tabela 7 – Medidas do peso do coração e ventriculo esquerdo dos grupos experimentais após o período de treinamento resistido..... 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSM	Colégio Americano de Medicina do Esporte
AMPK	Monofosfato de adenosina kinase
ANOVA	Análise de variância
DEXA	Densitometria por dupla emissão de raio X
EPI	Gordura epididimal
EPM	Erro padrão da média
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
IkkB	Complexo quinase IκB
IL-10	Interleucina 10
IL1-β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
MC	Massa corporal
MES	Gordura mesentérica
MM	Massa magra
MMP	Metaloproteinase de matriz
MMP-2	Metaloproteinase de matriz 2
MT-MMP	Metaloproteinase de matriz tipo membrana
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	Inibidor ativador do plasminogênio tipo 1
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PPAR-γ	Receptor ativado proliferador de peroxissomo-gama
PPAR-α	Receptor ativado proliferador de peroxissomo alfa
Pró-MMP	Forma inativa ou latente da metaloproteinase de matriz
RBP4	Proteina ligante de retinol 4
RET	Gordura retroperitoneal
RNAm	Ácido ribonucléico mensageiro
SCD-1	Esteroil coenzima-A dessaturase
SED	Grupo sedentário
SED-OB	Grupo sedentário obeso

SOMA	Soma do peso dos tecidos adiposos
SREBP-1c	Proteina 1-C ligadora do elemento regulado por esteróis
TIMP	Inibidor tecidual da metaloproteinase de matriz
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TR	Grupo treinado
TR-OB	Grupo treinado obeso
UCP-1	Proteina desaclopadora 1
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VE	Ventrículo esquerdo
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
VO_2max	Consumo máximo de oxigênio
Zn^2	Zinco

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1.	**REVISÃO DE LITERATURA**	18
1.1.	**Obesidade....**	18
1.2.	**Tecido adiposo**	19
1.3.	**Metaloproteinases de matriz: estrutura e regulação**	22
1.4.	**Remodelamento da matriz extracelular no coração, MMP-2 e obesidade**	24
1.5.	**Treinamento resistido como estratégia para mudança da composição corporal**	26
1.6.	**Treinamento resistido experimental: evidências a partir de modelos animais**	29
2.	**JUSTIFICATIVA**	32
3.	**OBJETIVO**	33
3.1.	**Objetivos primários**	33
3.2.	**Objetivos secundários**	33
4.	**MATERIAIS E MÉTODOS**	34
4.1.	**Aprovação ética**	34
4.2.	**Animais**	34
4.3.	**Grupos experimentais**	35
4.3.1.	Grupo sedentário (SED)	35
4.3.2.	Grupo sedentário Obeso (SED-OB)	35
4.3.3.	Grupo treinado e treinado obeso (TR e TR-OB)	36
4.4.	**Dieta**	36
4.5.	**Protocolo treinamento de força**	37
4.5.1.	Determinação da carga máxima de carregamento	37
4.5.2	Sessão de treinamento	38
4.6.	**Coleta de tecidos**	39
4.7.	**Massa corporal, ingestão e análise da composição corporal**	39
4.8.	**Avaliação da pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e pressão arterial média**	40

4.9 **Carga de treinamento**..... 40

4.10 **Tecido adiposo**..... 40

4.11 **Morfometria dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal**..... 40

4.12 **Imunohistoquímica para o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e receptor ativado proliferador de peroxissomo-gama (PPAR-γ) no tecido adiposo retroperitoneal**..... 41

4.13 **Ventrículo esquerdo**..... 41

5 **ANÁLISE ESTATÍSTICA**..... 43

6 **RESULTADOS**..... 44

6.1 **Massa corporal**..... 44

6.2 **Ingestão**..... 45

6.3 **Carga de treinamento e força relativa**..... 46

6.4 **Avaliação da composição corporal**..... 47

6.5 **Densidade mineral óssea e conteúdo mineral total**..... 49

6.6 **Depósitos de gordura**..... 50

6.7 **Percentual de gordura tecidual**..... 51

6.7.1 Conteúdo lipídico do ventrículo esquerdo..... 51

6.7.2 Conteúdo lipídico do fígado..... 52

6.7.3 Conteúdo lipídico dos músculos esqueléticos bíceps e gastrocnêmio..... 53

6.8 **Área de adipócito da gordura retroperitoneal e Expressão imunohistoquímica do receptor ativado proliferador de peroxissomo γ (PPAR-γ) e fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF)** 54

6.9 **Pressão arterial sistólica, diastólica e média**..... 58

6.10 **Medidas do coração e ventrículo esquerdo**..... 59

6.11 **Atividade da metaloproteinase do tipo 2 no ventrículo esquerdo**..... 60

6.12 **Interações entre dieta hiperlipídica e o treinamento resistido**..... 62

7. **DISCUSSÃO**..... 63

8. **RESUMO DOS ACHADOS**..... 72

9. **CONSIDERAÇÕES FINAIS**..... 73

10. **CONCLUSÃO**..... 74

REFERÊNCIAS..... 75

ANEXO A..... 84

ANEXO B..... 92

ANEXO C..... 98

INTRODUÇÃO

A obesidade é decorrente de uma complexa interação entre fatores genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais (HEBER, 2010), gerando o acúmulo excessivo de energia sob a forma de gordura no organismo (YADAV *et al.*, 2000). O consumo de dietas hipercalóricas e/ou a redução do gasto energético, são considerados os principais fatores que podem levar ao aumento de peso (HANSEN *et al.*, 2007; HEBER, 2010). A localização da gordura corporal tem implicações importantes para a saúde, visto que os mais altos riscos estão associados à obesidade abdominal provocado pela hipertrofia (aumento do volume), pela hiperplasia (aumento do número) e também pela liberação de adipocinas pró-inflamatórias (HEBER, 2010). Isto resulta em um processo inflamatório crônico de baixo grau capaz de alterar vários sistemas (GALIC, OAKHILL & STEINBERG, 2010; GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2010), aumentando o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Devido aos efeitos deletérios do acúmulo de tecido adiposo visceral tem crescido o interesse na investigação de estratégias para prevení-los e/ou atenuá-los (VIEIRA *et al.*, 2009; FOSTER-SCHUBERT & CUMMINGS, 2006; TOCK *et al.*, 2006; PEDERSEN, 2006).

O remodelamento do tecido cardíaco está intimamente ligado com a patogênese de algumas doenças induzidas pela obesidade. Este processo envolve a degradação de colágeno e é necessário para manter a integridade estrutural do tecido. No entanto, em determinadas condições como, por exemplo, o infarto do miocárdio, a hipertensão arterial e até mesmo a insuficiência cardíaca; observa-se um remodelamento patológico. Neste contexto há um processo progressivo, secundário possívelmente ao estresse cardiovascular crônico ou a qualquer outro estímulo fisiopatológico, que se manifesta alterando múltiplas estruturas e funções do miocárdio durante longos períodos de tempo (SCHRAM & SWEENEY, 2008). Além disso, ocorrem alterações na matriz extracelular resultantes de modificações na biosíntese do colágeno, organização e ruptura homeostática entre as metaloproteinases de matriz (MMPs) e os inibidores teciduais de MMPs, conhecidos como TIMPS. Os mecanismos que envolvem o remodelamento cardíaco na obesidade ainda não estão totalmente esclarecidos. No entanto, sabe-se que por conta do acúmulo do tecido adiposo, somado ao aumento da liberação de algumas adipocinas, pode-se alterar a atividade da MMPs e o subsequente remodelamento cardíaco.

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000) sugere que o programa de tratamento da obesidade seja fundamentado em um modelo de intervenção com ações integradas de diversas áreas da saúde envolvendo aspectos: comportamentais, psicológicos, farmacológicos, físicos e nutricionais. Especificamente com relação à intervenção física, evidências científicas demonstram que a prática regular de atividade física deve fazer parte de programas de tratamento e prevenção da obesidade (FOSTER, 2006). O principal objetivo da implementação do exercício físico sistematizado para indivíduos obesos geralmente é a perda de peso e da massa adiposa (HANSEN *et al.*, 2007) associados ao aumento de massa magra (JAKICIC *et al.*, 1999; IRWIN *et al.*, 2003; FETT, FETT & MARCHINI, 2009).

Segundo PETERSEN & PEDERSEN (2005), a prática de exercícios oferece proteção contra doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares. Todas essas condições estão associadas de alguma forma a inflamação sistêmica de baixo-grau decorrente do acúmulo de tecido adiposo. O exercício pode promover a diminuição de citocinas pró-inflamatórias produzidas pelo tecido adiposo, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α) e a interleucina-1beta (IL-1β), e pode causar o aumento de citocinas anti-inflamatórias, como a adiponectina e a interleucina-10 (IL-10). Dessa forma, o exercício contribui para a regulação das adipocinas liberadas pelo tecido adiposo, o que pode resultar em melhora na ação da insulina e aumento na mobilização e utilização de lipídeos (BERGGREN, HULVER & HOUMARD, 2005). Outro aspecto a ser destacado com relação aos efeitos positivos do exercício no tratamento da obesidade é a melhora da capacidade aeróbia. Os resultados da maioria dos trabalhos que incluem o exercício em seu programa de intervenção mostram que os indivíduos aumentam seu consumo máximo de oxigênio (VO_2max) (JAKICIC *et al.*, 1999; ROSS *et al.*, 2004; AMATI *et al.*, 2008; CHURCH *et al.*, 2008), ou seja, melhoram a sua capacidade funcional cardiovascular e a aptidão aeróbia (JAKICIC *et al.*, 2003).

O treinamento de força tem sido utilizado em programas de treinamento voltados para a saúde e a qualidade de vida. Este fato se deve a seus benefícios com relação à melhora do desempenho motor, hipertrofia muscular, aumento da resistência à fadiga (KRAEMER, RATAMESS & FRENCH, 2002), manutenção e aumento da massa magra (HANSEN *et al.*, 2007), aumento do gasto calórico e da taxa metabólica de repouso e ainda por um maior consumo de oxigênio pós-exercício (HAUSER, BENETTI & REBELO, 2004). Como conseqüência, ocorre diminuição no percentual de gordura corporal, favorecendo o emagrecimento. Além disso, há um potencial efeito do treinamento de força em melhorar a

força e resistência muscular, o que são fatores considerados benéficos para a realização de tarefas do cotidiano.

SPERETTA e colaborabores (2012), demonstraram que o treinamento resistido em ratos obesos, foi efetivo em diminuir a área do tecido adiposo, a adiposidade total, e em melhorar o perfil lipídico e a inflamação de baixo-grau. Utilizando também o treinamento resistido como modalidade de exercício físico PANVELOSKI-CASTRO *et al*. (2011) observaram a reversão do quadro de resistência à insulina e inflamação no músculo esquelético em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica. Recentemente MARQUETI *et al*. (2012), demonstraram que o treinamento induziu maior atividade e conteúdo protéico da MMP-2 no ventrículo esquerdo, o que pode significar um melhor remodelamento do tecido cardíaco.

A partir do exposto, fica claro que o treinamento resistido pode melhorar a composição corporal, a adiposidade total e o perfil inflamatório em ratos alimentados com dieta hiperlípidica. Entretanto são necessários estudos para analisar o impacto nos mecanismos celulares e moleculares do remodelamento cardíaco na obesidade, já que são escassas as evidências científicas mostrando o efeito desta modalidade de treinamento na atividade de proteínas relacionadas ao remodelamento cardíaco. Assim é importante estabelecer protocolos para elucidar como o treinamento de força influencia as mudanças da composição corporal, a adiposidade e a relação destes com o remodelamento cardíaco em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Com base neste racional, hipotetisamos que o treinamento resistido poderia alterar a composição corporal, a adiposidade e o remodelamento cardíaco de ratos submetidos à dieta hiperlipídica.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Obesidade

Atualmente a obesidade é uma doença que atinge números alarmantes, sendo considerada um problema de saúde pública em todo mundo (MOKDAD *et al.*, 2003). Isso pode ser observado no número de pessoas com diagnóstico de obesidade. Segundo FINUCANE *et al.*, (2011) estima-se que aproximadamente 500 milhões de pessoas adultas sejam obesas. Desse total, 205 milhões são homens e 297 milhões são mulheres. Estima-se que nos Estados Unidos são gastos aproximadamente 68 bilhões de dólares em custos atribuídos diretamente à obesidade e metade destes são feitos com programas para perda de peso (National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity, 1996).

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2010 temos no Brasil uma maior prevalência de obesidade nas mulheres (16,9%) quando comparado com os homens (12,4%). Nessa pesquisa também foi analisada a incidência de sobrepeso na população brasileira, demonstrando que o sobrepeso já atinge metade dos adultos em todas as regiões do país. A região Sul e Sudeste são as mais afetadas pelo sobrepeso. Na região Sul, o sobrepeso já atinge 56,8% dos homens e 51,6% das mulheres. A região Sudeste apresenta percentuais menores quando comparados com a região Sul. No entanto, são números considerados também preocupantes, já que 52,4% da população de homens e 48,5% das mulheres estão afetadas pelo sobrepeso. O IBGE também mostrou que 30% das crianças entre cinco e nove anos de idade e 20% dos jovens e adolescentes entre 10 e 19 anos apresentam obesidade. Apesar de todo o esforço na tentativa de diminuir esses números a perspectiva para o futuro é de aumento eminente (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2010).

A obesidade é decorrente de uma complexa interação entre fatores genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais (HEBER, 2010); proporcionando o acúmulo excessivo de energia sob a forma de gordura no organismo (YADAV *et al.*, 2003). O consumo de dietas hipercalóricas e/ou a redução do gasto energético resulta em um balanço energético positivo sendo estes considerados os principais fatores que podem levar ao acúmulo do tecido adiposo. (HANSEN *et al.*, 2007; HEBER, 2010). A localização da gordura

corporal tem implicações importantes para a saúde, visto que os mais altos riscos estão associados à obesidade abdominal provocado pela sua hipertrofia (aumento do volume) dos adipócitos (HEBER, 2010) e liberação de adipocinas pró-inflamatórias, resultando em um processo inflamatório crônico de baixo-grau capaz de alterar vários sistemas do organismo (GALIC, OAKHILL & STEINBERG, 2010; GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2010).

Evidências científicas têm demonstrado que existe forte correlação entre o aumento do tecido adiposo abdominal e a ocorrência de doenças crônico-degenerativas como diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial, aterosclerose, esteatose hepática não-alcoólica, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (REILLY *et al.*, 2005). Este fato tem implicação no aumento da morbi-mortalidade relacionada à obesidade.

A obesidade com padrão metabolicamente ativo pode ser fenotipicamente caracterizado pela ocorrência de síndrome metabólica. Esta é definida como a associação de diversos fatores de risco cardiovascular, como: hipertensão arterial, elevação da circunferência da cintura, alterações da tolerância à glicose, hiperglicidemia e baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (GRUNDY, 2006). Este padrão fenotípico tem implicação independente no risco cardiovascular e está diretamente relacionado com o padrão de distribuição do tecido adiposo no indivíduo (HEBER, 2010).

1.2 Tecido adiposo

O tecido adiposo apresenta duas funções principais. Uma delas é o armazenamento de energia na forma de triglicerídeos. Entretanto, atualmente sabe-se que este tecido atua também como um órgão endócrino liberando uma série de peptídeos e outros fatores que podem agir de forma autócrina e parácrina (THOMPSON *et al.*, 2012).

A sua outra função é de isolamento térmico e barreira física protegendo tecidos e órgãos contra traumas (TRAYHURN *et al.*, 2005; CINTI, 2012). Além disso, ele contém vários outros tipos de células, incluindo células endoteliais, precursores de adipócitos e fibroblastos (AHIMA *et al.*, 2006). Macrófagos e leucócitos também podem estar presentes no tecido adiposo principalmente naquelas pessoas com padrão fenotípico considerados metabolicamente ativos. Sua localização pode ser dividida em dois compartimentos principais, um deles logo abaixo da pele denominado de tecido adiposo subcutâneo e o outro localizado na região do tronco também chamado de depósito de gordura central ou troncular

(PISCHON *et al.*, 2008). Outra característica importante se refere aos tipos de tecidos adiposos existentes: marrom e branco.

O tecido adiposo marrom apresenta-se em quantidade significativamente menor quando comparado com o branco. Sua principal função é a de produzir calor participando ativamente na regulação da temperatura corporal. Este tipo de célula possui várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos (FRONTINI & CINTI, 2010; CINTI, 2012). Em humanos, há uma relação indireta entre a idade e a ocorrência do tecido adiposo marron. Entretanto, em roedores sua presença é universal e bem estabelecida.

O tecido adiposo marrom tem atividade termogênica devido à grande presença de mitocôndrias que utilizam a energia liberada pela oxidação dos ácidos graxos para gerar calor (FRONTINI & CINTI, 2010). Isso se deve a presença de uma proteína conhecida como termogenina ou também como proteína desacopladora 1 (UCP-1), a qual permite que a mitocôndria seja uma organela capaz de produzir calor (FRONTINI *et al.*, 2007). Já o tecido adiposo branco é composto por células que têm a função de armazenar triglicerídeos em uma única e grande gota lipídica. Devido a esta característica, estes adipócitos podem alterar seu tamanho, ou seja, hipertrofiarem-se mas também são capazes de aumentar o seu número, ou seja hiperplasiarem-se (CINTI, 2012). O tecido adiposo pode atuar regulando o armazenamento e a distribuição de gordura e ainda a comunicação com o sistema nervoso central e o trato gastrointestinal.

O tecido adiposo, como órgão secretor, encontra-se disperso em depósitos cuja atividade secretória é regulada por mecanismos humorais e hormonais. Neste sentido, a localização da gordura corporal tem um grande impacto na saúde, já que os mais altos riscos estão associados ao acúmulo de gordura abdominal ou visceral (padrão central) e produção e liberação de sinalizadores celulares ou adipocinas (HEBER, 2010). Além de fatores que regulam a expressão de vários genes envolvidos em várias vias metabólicas incluindo o metabolismo, a diferenciação celular e a inflamação. O receptor ativado proliferador de peroxissomo-gama (PPAR- γ) é altamente expresso no tecido adiposo e sua ativação pode alterar a distribição da gordura e o fenótipo do adipócito, além de regular genes envolvidos no metabolismo lipídico e estoque de triglicerídeos.

Estímulos como o aumento da ingestão calórica, o sedentarismo, a expansão do tecido adiposo e o aumento da infiltração de macrófagos ativados (M2) no tecido adiposo contribuem para o aumento da secreção de adipocinas consideradas pró-inflamatórias. Isso resulta em um processo inflamatório crônico de baixo-grau (HEBER, 2010). As adipocinas desempenham diversas funções que incluem desde a regulação da homeostase energética,

função imunológica, cardiovascular, metabólica e até mesmo regulação endócrina (GALIC, OAKHILL & STEINBERG, 2010). Sabe-se que a hipertrofia dos adipócitos associada ao aumento da infiltração de macrófagos pró-inflamatórios levam ao aumento na produção de adipocinas como, por exemplo, fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucina-6 (IL-6) (HEBER, 2010) (figura 1). Concomitamente ocorre uma maior liberação de ácidos graxos, aumento na produção e liberação da leptina, resistina e proteína ligante de retinol-4 (RBP4)(GALIC, OAKHILL & STEINBERG, 2010). Essas adipocinas estão relacionadas com alterações metabólicas e inflamatórias importantes como, por exemplo, na sinalização à insulina. Somado a isso, existe uma diminuição da adiponectina, que é considerada uma adipocina anti-diabética, anti-aterosclerótica, anti-inflamatória e anti-obesidade. Evidências científicas demonstram que existe uma correlação negativa entre a adiposidade e a concentração de adiponectina. (SHIBATA *et al*., 2005)

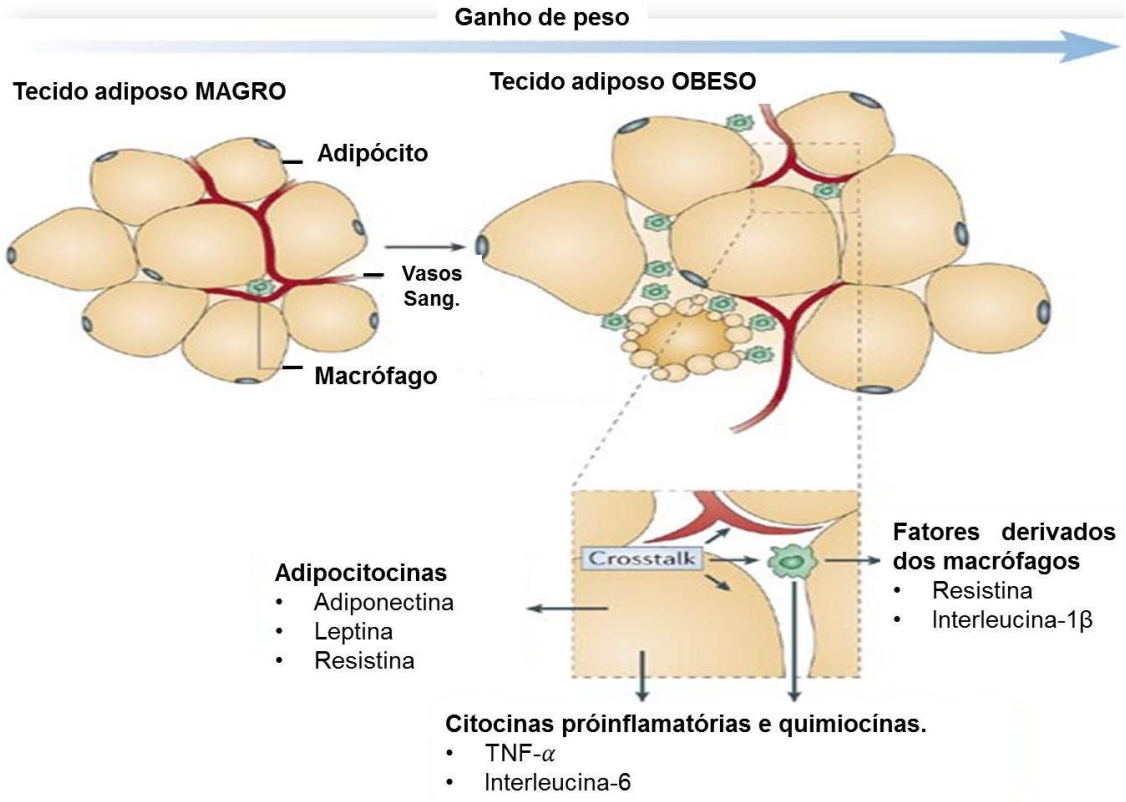


Figura 1. Aumento do tecido adiposo e liberação de adipocinas. (Adaptado de TILG & MOSCHEN, 2006)

Além disso, evidências científicas têm mostrado que na obesidade a medida que o acúmulo de teido adiposo progride a rede vascular neste tecido não é suficiente para manter o suprimento de oxigênio para todos os adipócitos, com consequente hipóxia tecidual (ELIAS *et*

al., 2012). Como mecanismo compensatório, tem sido observado a neoformação vascular no tecido adiposo na tentativa de reverter este processo (TRAYHURN *et al*., 2005). O principal fator indutor conhecido e responsável por este mecanismo é o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), atualmente considerado o único fator de crescimento de células endoteliais verdadeiro (HAUSMAN & RICHARDSON, 2004). Assim neste sentido, estudos demonstram uma relação direta entre obesos e uma maior expressão deste fator como resultado da hipóxia decorrente da expansão do tecido adiposo (ELIAS *et al*., 2012; HAUSMAN & RICHARDSON, 2004). Esta por sua vez pode resultar na expressão alterada de adipocinas, recrutamento de macrófagos pró-inflamatórios e pode também levar a resistência à insulina, influenciando diretamente o processo inflamatório na obesidade (HEBER, 2010).

1.3 Metaloproteinases: estrutura e regulação

Metaloproteinases de matriz (MMPs) são uma família de endopeptidases dependentes de zinco (Zn^2) capazes de degradar componentes da matriz extracelular, como colágeno, proteoglicanos, elastina, laminina, fibronectina e outras proteínas (ALI *et al*., 2012). As MMPs estão envolvidas em processos fisiológicos relacionadas a formação e degradação do tecido conectivo, remodelamento, angiogênese e aterosclerose (DONNELLY, COLLINSON & MANNING, 2003). Além disso, atuam também em processos patológicos como metástases de tumores (DERYUGINA & QUIGLEY, 2006), inflamação e artrites (MOHAMMED, SMOOKLER & KHOKHA, 2003; CHOW, CENA & SCHULZ, 2007).

Os principais grupos de MMPs são as colagenases intersticiais, que degradam colágeno do tipo I e II (exemplo: MMP-1 e MMP-8), duas gelatinases também conhecidas como gelatinases A (MMP-2) e B (MMP-9), ambas eficientes em degradar o colágeno do tipo IV; (tipo III) estromalisinas (exemplo: MM-3 e MMP-10) que possuem substratos específicos para proteoglicanos, fibronectina, laminina e alguns tipos de colágeno; (tipo IV) o sub-grupo tipo membrana de seis MMPs (MT1-MMP a MT6-MMP) e (tipo V) o subgrupo heterogêneo l(MMP-7, MMP-12 e MMP-20) (MATRISIAN, 1992; DONNELLY, COLLINSON & MANNING, 2003; KANDASAMY *et al*., 2010).

As MMPs são sintetizadas na forma de um zimogênio inativo com um domínio pró-peptídico autoinibitório, além de um domínio catalítico que contém o Zn^2 (PAGE-MCCAW *et al*., 2007). As gelatinases (MMP-2 e MMP-9) apresentam três fibronectinas tipo II as quais formam um domínio ligador de colágeno permitindo a ligação e clivagem do colágeno tipo IV

ou desnaturação deste (CHOW, CENA & SCHULZ, 2007). A ativação das MMPs requer a dissociação da ligação entre a sufridil cisteína no domínio pró-peptídico e o Zn^2 catalítico. O resíduo cisteína e o domínio catalítico de Zn^2 são comuns a todas as MMPs (CHOW, CENA & SCHULZ, 2007). O chamado trocador de cisteína parecer ser um mecanismo de ativação comum para todas as MMPs (VAN WART & BIRKEDAL-HANSEN, 1990). Essa interação entre o resíduo cisteína com o Zn^2 mantém a enzima na forma inativa ou latente (Pró-MMP). Por esse motivo, é necessário a dissociação entre o resíduo cisteína e o Zn^2. O complexo processo de ativação das MMPs é coordenado por um mecanismo que é chamado de trocador de cisteína (ou do inglês, "cysteine Switch"), sendo que se houver interação entre o resíduo cisteína e o Zn^2 a enzima estará inativada (VAN WART & BIRKEDAL-HANSEN, 1990). Se por algum motivo ocorrer esta dissociação ocorrerá à ativação da MMP (MMP ativa).

O complexo processo de regulação da atividade das MMPs inclui a ativação e inibição das MMPs, inibição, secreção de enzimas, regulação da transcrição gênica e, por fim, os inibidores teciduais de MMPs (TIMPS) (figura 2). As TIMPs são pequenas proteínas ricas em cisteína, que fazem parte de uma família de inibidores específicos de MMPs (TIMP-1 a 4) e que são essenciais para a regulação do metabolismo do tecido conectivo normal (KUKACKA *et al.*, 2005**)**.

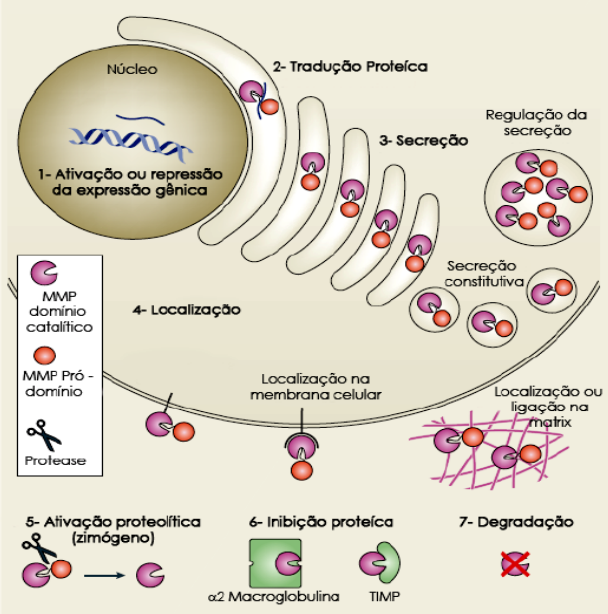


Figura 2. Mecanismos regulatórios das MMPs podem incluir: (1) ativação ou repressão da expressão gênica através de sinais indutores ou repressores a partir do meio extracelular, seguido do processamento ou degradação do RNA mensageiro(RNAm); (2) tradução protéica: (3) secreção constitutiva ou regulada; (4) localização extracelular ou na superfície da célula.; (5) ativação proteolítica (zimogênio): (6) inibidores endógenos: TIMPs e α2-macroglobulina (inibição protéica) e (7) processamento ou inativação proteolítica. (Adaptado de PAGE-MCCAW *et al.*, 2007)

Tipicamente as MMPs não são expressas em tecidos saudáveis e nem tampouco no estado de repouso. Entretanto, quando há algum processo de reparação e/ou remodelamento fisiológico elas estarão expressas. A MMP-2 é uma gelatinase (gelatinase A) capaz de desnaturar o colágenos (KANDASAMY *et al.*, 2010) dos tipos I, II, III e IV, além disso ela também exerce uma ação sobre a elastina, a fibronectina e outros componentes da matriz extracelular sendo expressa e secretada constitutivamente em mioblastos e fibroblastos em condições fisiológicas. Alguns fatores, como as citocinas, podem aumentar sua expressão tecidual (STRONGIN *et al.*, 1995).

Neste sentido evidências científicas vêm demonstrando que a degradação alterada da matriz extracelular pelas MMPs, especialmente a MMP-2, está correlacionada com o desenvolvimento de desordens cardiovasculares, incluindo aterosclerose, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, cardiomiopatia e hipertrofia do ventrículo esquerdo (MUJUMDAR, SMILEY & TYAGI, 2001; SPINALE *et al.*, 2007). Todas estas condições estão relacionadas com a obesidade e, como resultado, tem crescido o interesse na influência da obesidade na regulação da matriz extracelular do miocárdio e o seu processo de remodelamento. Além disso, há interesse crescente no papel das intervenções neste binômio em obesos.

1.4 Remodelamento da matriz extracelular no coração, MMP-2 e obesidade.

O remodelamento do tecido cardíaco está intimamente ligado com a patogênese de algumas doenças que afetam o miocárdio na obesidade. Este processo envolve a degradação de colágeno e é necessário para manter a integridade estrutural do tecido. Entretanto, em determinadas condições patológicas como o infarto do miocárdio, hipertensão arterial e até mesmo insuficiência cardíaca observa-se um remodelamento patológico.

O remodelamento é um processo progressivo, secundário ao estresse cardiovascular crônico e a qualquer outro estímulo fisiopatológico, que se manifesta alterando múltiplas estruturas e funções do miocárdio durante longos períodos (SCHRAM & SWEENEY, 2008). É na matriz extracelular que ocorrem alterações secundárias a modificações na biosíntese do colágeno, na organização e na ruptura homeostática entre as MMPs e as TIMPs. Como resultado deste desequilíbrio são observados a hipertrofia, hiperplasia e apoptose dos miócitos, além de mudanças de seu metabolismo e alterações na composição e estrutura da

matriz extracelular (ABEL, LITWIN, & SWEENEY, 2008; SCHRAM & SWEENEY, 2008; SCHRAM *et al.*, 2011).

Estudos com animais têm demonstrado a presença da MMP-2 em ratos espontaneamente hipertensos e em modelos experimentais de insuficiência cardíaca. Foi encontrada também uma relação entre a expressão da MMP-2 e a dilatação e disfunção ventricular (MUJUMBAR *et al.*, 2001).

Em modelo experimental de ratos com insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio foi observado um aumento da ativação da MMP-2 a medida que ocorria a progressão desta condição patológica. Foi demonstrado ainda haver uma relação direta entre as metaloproteinases de matriz e condições patológicas no miocárdio (BERGMAN *et al.*, 2007).

Estudos clínicos também revelaram esta relação entre condições que exigem o remodelamento cardíaco e as metaloproteinases. Foram encontrados elevados níveis circulantes de MMP-2 em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica ou isquêmica após o infarto do miocárdio. (MATSUNAGA *et al.*, 2005)

Sabe-se que por conta do acúmulo do tecido adiposo, somado ao aumento da liberação de algumas adipocinas, pode haver a ativação das MMPs (SCHRAM & SWEENEY, 2008; SCHRAM *et al.*, 2011). Evidências científicas demonstram que as adipocinas podem acarretar um aumento na formação e deposição de colágeno, além de aumentar também a expressão e a atividade da MMPs e influenciar a expressão dos TIMPs. Dentre as adipocinas capazes de ativar as MMPs podemos destacar a leptina, a adiponectina, o TNF-α, o PAI-1 e a proteína C-reativa(ZIBADI *et al.*, 2011). Vários constituintes do tecido cardíaco, como os cardiomiócitos, fibroblastos, células endoteliais e células de músculos lisos; podem apresentar resposta frente aos estímulos autócrinos, parácrinos e endócrinos influenciados pelas adipocinas. Tudo isto irá contribuir para o remodelamento patológico do miocárdio, acúmulo de colágeno e uma expressão alterada das MMPs (SCHRAM & SWEENEY 2008).

Outras alterações estruturais podem ser observadas com o remodelamento do miocárdio prejudicado. Em ratos espontaneamente hipertensos, a hipertrofia cardíaca esteve associada com o aumento da atividade da MMP-2 o que resultou em decréscimo da força de tensão cardíaca e disfunções sistólica e diastólica (MUJUMDAR, SMILEY & TYAGI, 2001).

Além disso, o estresse oxidativo tem sido relacionado com importantes alterações na contratilidade no miocárdio (KANDASAMY *et al.*, 2010). Esse fato pode ser devido à ativação da MMP-2 pelo estresse oxidativo, o que promove a degradação de proteínas específicas do sarcômero e do citoesqueleto do cardiomiócito, incluindo troponina I, cadeia

leve de miosina 1, α-actinina e titina. Essas degradações proteolíticas podem levar a disfunção contrátil do miocárdio (ALI *et al.*, 2012)

Assim fica claro que o remodelamento da matriz extracelular exerce um papel fundamental para o miocárdio e que a obesidade pode influenciar significativamente esse processo através do aumento de adipocinas e de algumas de suas comorbidades.

1.5 Treinamento resistido como estratégia para mudança da composição corporal.

O Colégio Americano de Ciências do Esporte (ACSM) recomenda, em seu posicionamento publicado no ano de 2009, que indivíduos realizem exercícios com duração de 150 a 200 minutos por semana para manterem sua massa corporal gerando um gasto calórico em torno de 1200 a 2000 Kcal por semana. Já indivíduos com sobrepeso ou obesidade necessitam aumentar este tempo para 250 a 300 minutos por semana, o que geraria um gasto calórico em torno de 2000 kcal (DONNELLY ET AL., 2009).

A atividade física deve ser parte do tratamento da obesidade e ser prescrita com o objetivo de diminuir o peso corporal e a presença das comorbidades (FOSTER, 2006). Devemos salientar, que o exercício não apenas contribui para o aumento do gasto energético, diminuição da gordura e massa corporal, mas também protege contra a perda de massa magra, melhorando a capacidade cardiorrespiratória e reduzindo riscos cardiometabólicos relacionados à obesidade, consequentementemente com efeito cardioprotetor (STRASSER, ARVANDI & SIERBET, 2012). Diante disso, o interesse da comunidade científica em estabelecer os benefícios do exercício físico na obesidade tem aumentado consideravelmente. Fato este evidenciado pelo aumento no número de publicações científicas com este tema.

Treinamento aeróbio e de força têm sido recomendados como modalidades de exercícios no tratamento da obesidade. Contudo, ainda não está claro qual modalidade é mais eficiente para a prevenção e tratamento da obesidade. Tradicionalmente, o exercício aeróbio tem sido prescrito como estratégia para aumentar a capacidade aeróbia e favorecer uma diminuição significativa na quantidade de gordura corporal, além de promover melhora no perfil lipídico, na hipertensão arterial, na resistência à insulina e em comorbidades associadas à obesidade em ratos (MOSTARDA et al., 2012, BRADLEY et al., 2008, PINHEIRO *et al.*, 2007).

Devido a estes efeitos já estabelecidos, a principal modalidade de exercício recomendada na obesidade ainda é o treinamento aeróbio. No entanto, tem crescido o

interesse no treinamento resistido como estratégia para prevenir o ganho de peso e diminuir a quantidade de gordura em adultos e jovens (FOSCHINI *et al.*, 2009).

O treinamento resistido, também conhecido como treinamento com pesos ou treinamento de força, é uma modalidade de exercício que também pode exercer vários benefícios para o sujeito com sobrepeso e obeso. Observa-se aumento ou manutenção da massa magra, controle da pressão arterial, melhora da aptidão cardiorrespiratória, do perfil lipídico, da composição corporal, da sensibilidade à ação da insulina, um efeito cardioprotetor, além de uma atenuação no processo inflamatório induzido pela liberação de citocinas pró-inflamatórias (HANSEN *et al.*, 2007; BARUANA *et al.*, 2007; DONNELLY *et al.*, 2009, DE SALES *et al.*, 2010).

O treinamento resistido ainda é tido como uma modalidade pouco eficiente para gerar um gasto calórico suficiente em modificar a massa corporal signifitivamente (DONNELLY *et al.*, 2009). Assume-se que o principal efeito deste treinamento seja a modificação na composição corporal, diminuindo a quantidade gordura corporal e aumentando a massa muscular (STRASSER, ARVANDI & SIERBET, 2012).

Esse mecanismo pode ser explicado pelo aumento da oxidação de gordura durante e após o treinamento e pelo aumento da massa muscular, o aumento da taxa metabólica basal, o que resulta em um maior gasto calórico. Além disso, com a melhora dos níveis de força, resistência muscular e coordenação pode ocorrer também um aumento das atividades diárias, o que irá colaborar para o aumento do gasto calórico (figura 3). Todas essas modificações associadas podem levar a diminuição da gordura corporal (DONNELLY *et al.*, 2009).

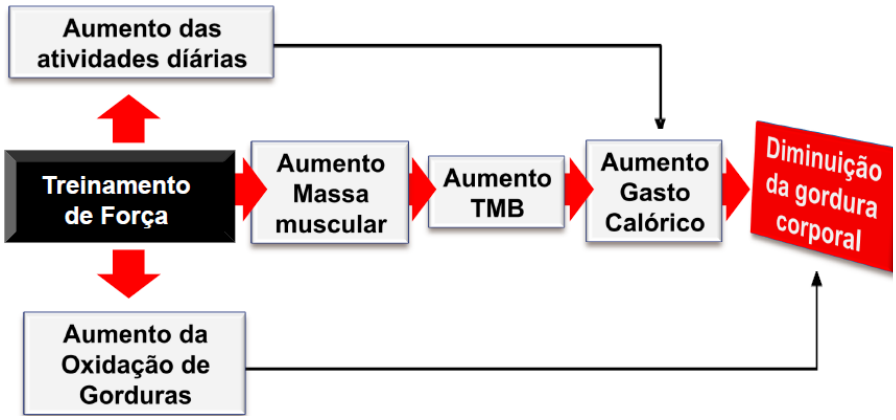


Figura 3. Modelo conceitual do treinamento de força e o seu potencial efeito no dispêndio energético (Adapatado de DONNELLY *et al.*, 2009).

Essas mudanças na composição corporal são importantes já que maiores quantidades de massa muscular podem reduzir os riscos relacionados à obesidade (dislipidemia,

resistência à insulina e diabetes *mellitus* do tipo 2) e consequentemente àqueles relacionados a doenças cardiovasculares (figura 2) (BRAITH & STEWART, 2006; STRASSER, SIEBERT & SCHOBERSBERGER, 2010).

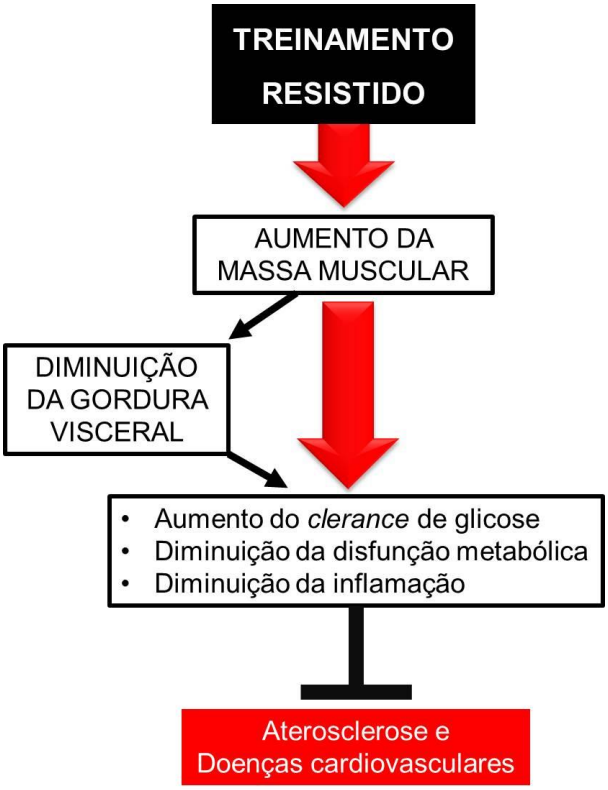


Figura 4. Relação entre massa muscular fatores de risco de doenças cardiovasculares (Adaptado de STRASSER, ARVANDI & SIERBET, 2012).

Neste sentido recentemente HO *et al.*, (2012) demonstraram que o treinamento resistido realizado durante 12 semanas em homens com sobrepeso e obesidade, foi capaz de diminuir significativamente o percentual de gordura, a concentração de colesterol total, os níveis de lipoproteína de baixa densidade e ainda aumentar os de lipoproteína de alta densidade. Outro resultado relevante foi o aumento significativo da taxa metabólica basal, o que pode representar um aumento no gasto calórico.

Outros estudo conduzido por FOSCHINI *et al.*, (2009) analisou o impacto de dois tipos de periodizações (periodização linear vs ondulatória diária) e verificou que os dois tipos são efetivos para reduzir massa corporal e gorduras visceral e subcutânea, além de diminuir o colesterol total e pressão arterial em adolescentes obesos. Foi observado também um aumento significativo para a massa muscular, VO_2max e resistência muscular após 14 semanas de treinamento.

Um estudo conduzido por FERREIRA *et al.*, (2009) demonstrou que o treinamento resistido sem qualquer alteração dietética foi capaz de promover uma diminuição significativa no percentual de gordura corporal total e troncular, além de aumentar significativamente a massa muscular de mulheres sedentárias com idade média de 40 anos. O treinamento resistido consistiu de um circuito (duas voltas) com nove exercícios para membros superiores e inferiores, uma série de 8 a 12 repetições máximas e com intervalo de repouso de 2 minutos entre cada exercício. O treinamento era realizado três vezes por semana durante dez semanas.

Algumas evidências científicas demonstram resultados contrários aos supracitados. Alguns estudos encontraram uma mudança modesta na gordura corporal ou nenhuma mudança em períodos que variaram de 12 a 52 semanas de duração. Recentemente, SLENTZ *et al.*, (2011) analisaram o efeito do treinamento aeróbio e do resistido sobre a gordura visceral, subcutânea e total em homens com sobrepeso. Os resultados das gorduras visceral e subcutânea e do percentual de gordura foram significativamente menores nos grupos que realizaram o treinamento aeróbio quando comparados com o resistido. No entanto, não foi possível analisar os valores de massa muscular, já que os autores não apresentam esses dados. Apesar destes resultados, existe um aumento no número de evidências científicas demonstrando que o treinamento resistido pode modificar a composição corporal levando ao aumento da massa muscular e, o mais importante, a uma diminuição da gordura corporal.

1.6 Treinamento resistido experimental: evidências a partir de modelos animais.

Recentemente vários investigadores da área básica têm estudado o impacto do treinamento resistido utilizando modelos experimentais deste exercício em ratos. Este tipo de estudo permite que seja investigado com maior profundidade os mecanismos moleculares e celulares envolvidos com esta modalidade de treinamento. Desse modo, o número de trabalhos utilizando o treinamento resistido como modalidade de exercício vem aumentando significativamente. Tem-se utilizado vários aparatos e protocolos de treinamento resistido como, por exemplo, a escada para escalada, o treinamento de salto na água e fora d´água a partir de um estímulo elétrico. A grande maioria dos estudos vem sendo desenhados com o objetivo de hipertrofia a fim de mimetizar os protocolos em humanos.

Um das primeiras evidências científicas com o uso do treinamento resistido em ratos foi conduzido por HORNBERGER & FARRAR (2004) e publicado na revista Canadian Journal Applied Physiology (atualmente denominada, Journal of Applied Physiology, Nutrition and Metabolism). Os autores demonstraram que oito semanas de treinamento

resistido em ratos (figura 5), capaz de mimetizar o treinamento resistido progressivo em humanos, promovendo aumento do conteúdo protéico e hipertrofia do músculo flexor longo do hálux.

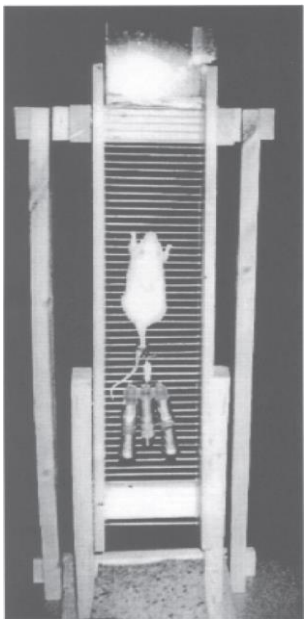


Figura 5. Aparato de treinamento utilizado por HORNBERGER & FARRAR (2004).

A partir de então este modelo foi utilizado por vários pesquisadores para estudar o impacto do treinamento resistido em condições fisiológicas bem como patológicas. SPERETTA *et al.*, (2012) demonstraram que o treinamento resistido foi efetivo para diminuir a área do tecido adiposo, a adiposidade, em melhorar o perfil lipídico e a inflamação associada à obesidade devido ao consumo de uma dieta hiperlipídica. Utilizando também o treinamento resistido como modalidade de exercício físico PANVELOSKI-CASTRO et al., (2011) observaram reversão do quadro de resistência à insulina e inflamação no músculo esquelético em ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica. Os resultados deste estudo demonstraram que o treinamento resistido diminuiu a expressão de TNF-alfa no tecido adiposo visceral.

TALEBI-GARAKANI & SAFARDAZE (2012) demonstraram que o treinamento resistido também pode ter um impacto importante em ratos diabéticos. O estudo conduzido por estes autores demonstrou que este treinamento foi capaz de diminuir a concentração de citocinas pró-inflamatórias em ratos diabéticos.

Além disso, o treinamento resistido experimental vem sendo utilizado como estratégia para prevenir os efeitos deletérios de condições como a menopausa, alterações

cardiovasculares e até o câncer (BARAUNA *et al.*, 2007; LEITE *et al.*, 2009 ; PRESTES *et al.*, 2009; DONATO *et al.*, 2012).

Uma série de trabalhos com menopausa e treinamento resistido tem demonstrado que esta modalidade pode ser uma estratégia interessante para prevenir ou atenuar os efeitos deletérios desta condição fisiológica. Os resultados evidenciam que o treinamento resistido foi eficaz para promover a diminuição dos depósitos de gorduras em ratas ovariectomizadas (CORRIVEAU *et al.*, 2008; LEITE *et al.*, 2009;. PIGHON *et al.*, 2009).

Além disso, outras evidências sinalizam para a melhoria de outros aspectos relacionados a este tipo de modelo experimental como, por exemplo, aumento da atividade da MMP-2 no músculo (PRESTES *et al.*, 2009), tendão (PEREIRA *et al.*, 2010) e osso (SHIGUEMOTO *et al.*, 2012). Outro estudo demonstrou que o treinamento resistido pode aumentar a expressão de enzimas relacionadas à lipólise no fígado de ratas ovariectomizadas (DOMINGOS *et al.*, 2012).

O impacto do treinamento resistido experimental no sistema cardiovascular vem sendo estudado. BARAUNA *et al.*, (2007) demonstrou que o treinamento resistido em ratos durante 12 semanas, induz ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca concêntrica sem redução da cavidade ou disfunção ventricular. Neste sentido, SOUFI *et al.* (2011) também demonstraram que o treinamento de força durante 12 semanas foi capaz de gerar efeito cardioprotetor contra lesões do miocárdio induzidas por infarto do miocárdio. Em contrapartida, DOUSTAR et al. (2012) demonstraram que quatro semanas de treinamento resistido não foram suficientes para promover efeito cardioprotetor contra lesão induzida por isquemia e reperfusão, além de não gerar mudança significativa no tamanho do infarto e na taxa de apoptose do tecido cardíaco. Devemos considerar que o curto período de treinamento deste estudo pode ter sido o principal fator pelo qual não foram observados efeitos cardioprotetores. Recentemente, MARQUETI *et al.* (2012) demonstraram que o treinamento resistido com saltos na água induziu uma maior atividade e um maior conteúdo protéico da MMP-2 no ventrículo esquerdo em ratos saudáveis, o que pode significar um melhor remodelamento do tecido cardíaco. No entanto, ainda são necessários outros estudos para analisar o impacto deste nos mecanismos celulares e moleculares do remodelamento cardíaco relacionados a obesidade, já que são escassas as evidências que demostram o efeito do treinamento resistido na atividade de proteínas relacionadas ao remodelamento cardíaco nesta doença

2. JUSTIFICATIVA

O aumento drástico no número de pessoas com sobrepeso e obesas em todo o mundo tem levado a comunidade científica a aumentar o seu interesse em estudar esta condição e principalmente em estabelecer estratégias farmacológicas e não-farmacológicas para diminuir os efeitos deletérios da obesidade, principalmente no sistema cardiovascular em especial no remodelamento cardíaco.

O remodelamento cardíaco é um processo progressivo, adaptativo e compensatório de múltiplas estruturas e funções do coração em decorrência da obesidade e suas comorbidades, como a hipertensão. O remodelamento da matriz extracelular tem sido considerado um importante componente do remodelamento cardíaco. Além disso, evidências científicas demonstram que as MMPs como, por exemplo a MMP-2, têm sido consideradas mediadores diretos do remodelamento ventricular. A partir do exposto acima é extremamente importante compreender o impacto de estratégias não-farmacológicas sobre órgãos e sistemas fisiológicos que são afetados diretamente pela obesidade.

Neste sentido, o exercício físico, principalmente o treinamento aeróbio tem se mostrado uma ferramenta capaz de promover inúmeros benefícios na prevenção e no tratamento da obesidade levando a uma diminuição na adiposidade, nos níveis pressóricos, na glicemia, além de proporcionar uma melhora do perfil lipídico, aumentos na capacidade cardiorrespiratória, na taxa metabólica basal e na massa magra. No entanto, o impacto do treinamento resistido sobre mecanismos celulares e moleculares de remodelamento cardíaco na obesidade ainda não foram elucidados e são escassas as evidências científicas mostrando o efeito desta modalidade no remodelamento cardíaco.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivos primários

. Analisar o efeito do treinamento resistido na composição corporal de ratos alimentados com ração hiperlipídica.

. Analisar o efeito do treinamento resistido na pressão arterial e na atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo de ratos alimentados com ração hiperlipídica.

3.2 Objetivos secundários

. Analisar o efeito do treinamento resistido nos depósitos de gordura retroperitoneal, mesentérico e epididimal.

. Analisar o efeito de treinamento resistido na área dos adipócitos e na expressão de VEGF e PPAR-gama no tecido adiposo retroperitoneal.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aprovação do Comite de Ética

Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de janeiro (UERJ), Rio de Janeiro – RJ, Brasil, parecer n° 060/2012 (anexo III). Todos os procedimentos com os animais foram conduzidos de acordo com o guia para cuidados e uso de animais de laboratório (National Research Council, 1998).

4.2. Animais

Foram utilizados 32 ratos Wistar machos (*Rattus novergicus var. albinus, Rodentia, Mammalia*) com massa corporal média de 401,11 ± 9,16 g. Estes foram mantidos em caixa coletivas (5 ratos por caixa) com temperatura constante de 22 ± 2ºC e ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais receberam ração e água *ad libitum*.

Para evitar o efeito ninhada, apenas 6 filhotes machos foram mantidos em cada caixa a partir do nascimento até o desmame (21 dias) induzindo assim uma maior lactação (FISHBECK & RASMUSSEN, 1987). Durante o período de lactação (21 dias), as ratas receberam ração padrão (Nuvilab®, Paraná, Brazil) e água *ad libitum*. Após o 21º dia do nascimento, no desmame, 32 filhotes foram randomicamente divididos em quatro grupos experimentais de 8 animais cada.

4.3. Grupos experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos: sedentário (SED), sedentário obeso (SED-OB), treinado (TR) e treinado obeso (TR-OB; figura 6). Os grupos experimentais sedentários (SED e SED-OB) foram mantidos em suas caixas durante o período experimental sem qualquer tipo de exercício, enquanto os animais dos grupos treinados (TR e TR-OB) realizaram 12 semanas de treinamento resistido. Este teve início no mesmo período para ambos os grupos treinados.

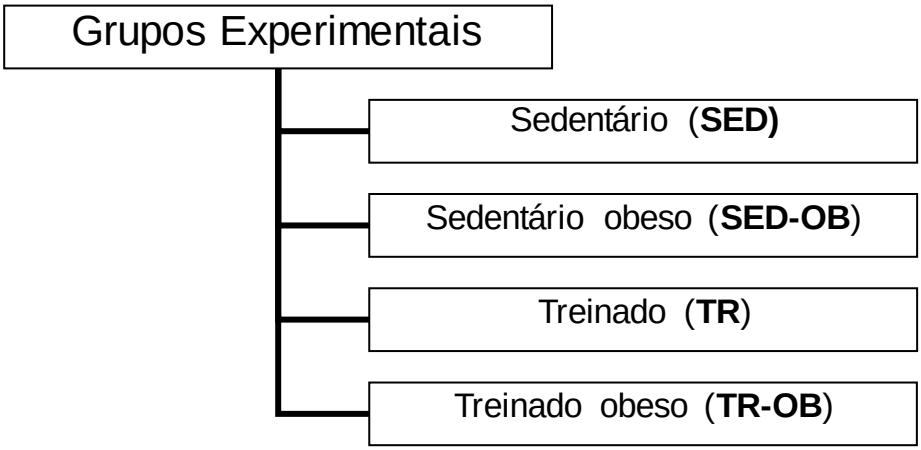


Figura 6. Descrição dos grupos experimentais.

4.3.1. Grupo sedentário (SED)

Os animais denominados sedentários foram assim classificados por não realizarem qualquer tipo de treinamento durante todo o período experimental nem tampouco durante todo o período receberam dieta padrão (12 primeiras semanas após desmame).

4.3.2.Grupo sedentário obeso (SED-OB)

Os animais denominados sedentário obeso foram assim classificados por não realizarem qualquer tipo de treinamento resistido, durante todo o período experimental. Entretanto, receberam durante todo o período (24 semanas após desmame) a dieta hiperlipídica.

4.3.3. Grupos treinado e treinado obeso (TR e TR-OB)

Os grupos realizaram o treinamento resistido por 12 semanas de treinamento com cargas progressivas a cada sessão. O grupo TR realizou o treinamento de força e recebeu dieta padrão, enquanto o grupo TR-OB recebeu dieta hiperlipídica e realizou o treinamento resistido.

4.4 Dieta

Os grupos SED e TR receberam uma ração padrão comercial para roedores (Nuvital, Nuvilab®, Colombo-PR, Paraná, Brasil) peletizada contendo 23% de proteínas, 71% de carboidratos, 6% de gorduras e 5% de fibras.

A dieta hiperlipídica foi composta de uma parte de ração comercial padrão para roedores (Nuvital, Nuvilab®, Colombo-PR, Paraná, Brasil), uma parte de gordura vegetal hidrogenada (Primor, SC, Brazil) e uma parte de leite condensado (Nestlê, São Paulo, SP, Brazil). A dieta foi confeccionada uma vez por semana e armazenada na forma de *pellets* a 4°C de acordo com as recomendações do Instituto Americano de Nutrição (AIN-93M). O conteúdo desta dieta foi composto por 15% de proteínas, 30% de gorduras e 55% de carboidratos (tabela 1).

Temporalmente, os grupos SED-OB e TR-OB receberam a ração hiperlipídica por 24 semanas, 12 semanas antes e mais 12 durante o período do treinamento resistido (PINHEIRO *et al.*, 2007).

Tabela 1. Composição nutricional das dietas utilizadas durante o período experimental

	Dieta Hiperlipídica (%)	Dieta padrão (%)
Ração Comercial[a]	60,00	100
Gordura vegetal hidrogenada[b]	25	-
Leite Condensado[c]	15	-
Proteína	15	23
Gordura	30	6
Carboidrato	55	71
Energia (kJ/Kg)	23	17,9
Energia (kcal/g)	5,50	4,28

[a] Ração padrão para ratos, Nuvital, Nuvilab, Colombo-PR; [b] Gordura vegetal hidrogenada, Primor; [c]Leite Condensado, Nestlé, São Paulo-SP, Brazil.

4.5. Protocolo treinamento de força

4.5.1. Determinação da carga máxima de carregamento

Inicialmente, os animais foram adaptados ao protocolo de treinamento de força que exigia que estes escalassem uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degrau de 2-cm, inclinação de 80°) com pesos presos às suas caudas (figura 7). O tamanho da escada exigiu dos animais de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato de carga foi preso a porção proximal da cauda com uma fita autoadesiva. Com o aparato fixado à cauda os animais foram colocadas na parte inferior da escada e familiarizados com a escalada. Caso necessário, um estímulo com pinça era aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento. No topo da escada os ratos alcançavam uma gaiola (20 x 20 x 20 cm), onde descansavam durante 120 segundos. Este procedimento foi repetido até que os animais conseguissem voluntariamente escalar a escada, três vezes consecutivas e sem estímulo (LEITE *et al.*, 2009).

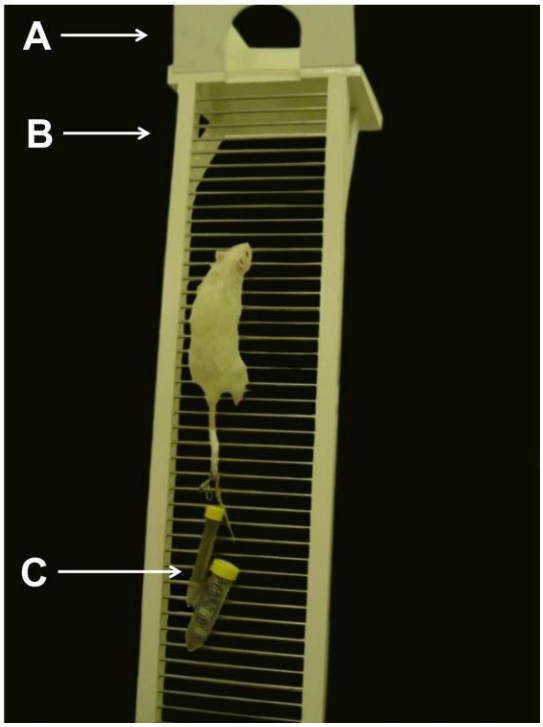


Figura 7. Escada para treinamento de força (LEITE *et al.*, 2009). A = Local de descanso depois de cada subida (2 minutos de descanso); B = Escada utilizada para a realização do treinamento resistido; C = tubo falcon atado a cauda do animal contendo pesos utilizados como carga de treinamento.

Após duas sessões de familiarização foi realizada a determinação da carga de carregamento que consistiu-se de 4 a 9 escaladas na escada com cargas progressivamente mais pesadas (figura 8). A escalada inicial consistia em carregar uma carga de 75% do peso corporal do animal. Em seguida, era adicionado um peso de 30g até a ocorrência de falha em escalar. Esta foi definida pela impossibilidade do animal progredir na subida da escada após três estímulos sucessivos na cauda. A maior carga carregada por toda a escada foi considerada como a carga máxima de carregamento do rato para aquela sessão de treinamento.

Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado	domingo
Familiarização Sessão 1	X	Familiarização Sessão 2	X	CARGA MÁXIMA	X	X

Figura 8. Protocolo para determinação da carga máxima de carregamento.
X = período de descanso.

4.5.2. Sessão de treinamento

As sessões de treinamento consistiam de quatro escaladas na escada, com 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima de carregamento do animal, determinada na sessão anterior (figura 9). Durante as escaladas subsequentes eram adicionados 30g até que uma nova carga máxima de carregamento fosse determinada num total de 4 a 9 subidas. O intervalo entre cada subida era de 120 segundos. O treinamento era encerrado na ocorrência de falha ao escalar. O protocolo de treinamento de força foi adaptado de LEITE et al. (2009), de acordo com as necessidades do presente estudo.

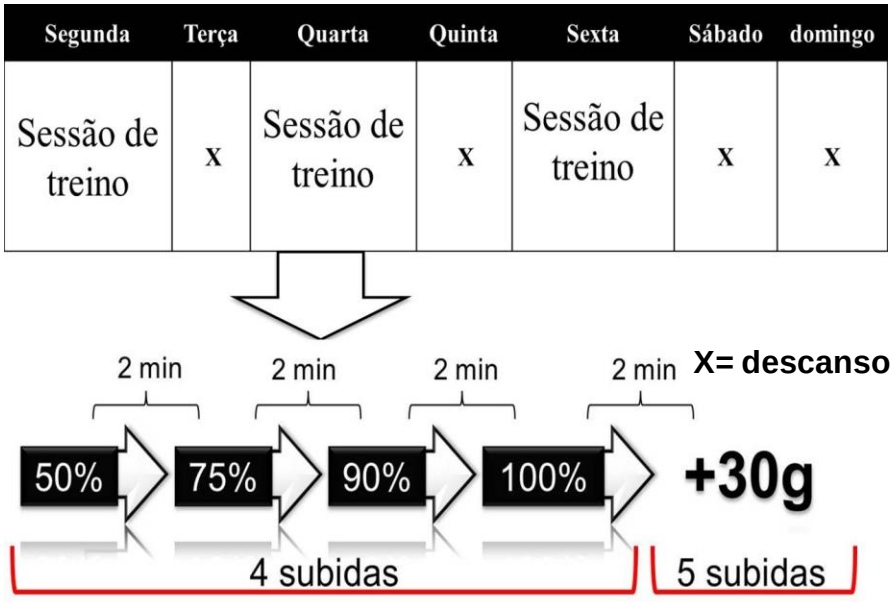


Figura 9. Protocolo do treinamento resistido.

4.6. Coleta de tecidos

Após 48 horas do término da última sessão de treinamento, ao término do período experimental, os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina. Os tecidos e órgãos coletados foram: coração, fígado, tecido adiposo mesentérico, epididimal, retroperitoneal, músculos esqueléticos (Sóleo, Gastrocnêmio e Bíceps). Os órgãos e tecidos foram pesados e congelados em nitrogênio líquido para análises posteriores.

4.7. Massa corporal, mensuração da ingesta e análise da composição corporal

A medida de massa corporal foi realizada semanalmente por balança eletrônica (Toledo, modelo EB 211, São Bernado do Campo-SP, Brasil). A ingestão, definida como a quantidade que os animais consumiam de ração, ou seja, a subtração entre a quantidade total de ração ofertada e a quantidade remanescente na caixa foi realizada três vezes por semana.

Foram realizadas medidas de composição corporal antes do início e antes da última sessão de treinamento. Os animais foram anestesiados com ketamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg) para a mensuração da composição corporal através da densitometria por dupla emissão de raio X (DEXA) (Lunar DEXA 200368 GE instrument; Lunar, Wisconsin, USA). A análise das imagens foram feitas através de programa próprio em software específico (Encore 2008, 12.20, GE Healthcare). As variáveis de composição corporal medidas foram:

massa magra (g), massa gorda (g), percentual de gordura total (%) e percentual de gordura do tronco(%). Além disso, análises ósseas também foram feitas, entre elas: densidade mineral óssea total (DMO), em g/cm^2 e conteúdo mineral ósseo total, em gramas. Todas as medidas foram realizadas para cada animal.

4.8. Avaliação da pressões arteriais sistólica, diastólica e média

As pressões arteriais sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) foram realizadas antes e depois do período de treinamento usando método não-invasivo por pletismografia pela cauda (Letica LE 5200, Panlab, Barcelona, Spain)(PINHEIRO *et al.*, 2007). Os animais foram adaptados ao protocolo desta medida por uma semana antes de sua aferição.

4.9. Carga de treinamento

As cargas de treinamento (50%, 75%, 90% e 100% da carga de carregamento) que os animais realizavam a cada sessão de treinamento foram registradas a cada sessão. O ajuste na carga era realizado sempre que o animal atingia cargas superiores a 100% na sessão anterior. A carga de carregamento foi analisada ao final de cada semana de treinamento. Além disso, foi determinada a força relativa para cada animal, dividindo o valor da massa corporal pela carga de carregamento máxima no final do período experimental.

4.10 Tecido adiposo

A coleta do tecido adiposo foi realizada de acordo com as descrições de CINTI (2005). Foram coletados, pesados e estocados os tecidos adiposos: mesentérico, epididimal, retroperitoneal. Realizamos a morfometria dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal e a imunohistoquímica para PPAR-γ e para VEGF.

4.11 Morfometria dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal

As medidas foram realizadas no Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade de Estado do Rio de Janeiro. As amostras do tecido adiposo retroperitoneal foram fixados em paraformaldeido. Após 24 horas de fixação, estas foram desidratadas com etanol 100% (5x), incubado com xilol (3x) e parafina líquida (3x) e embebida dentro de parafina. Secções de 5µm foram obtidas no micrótomo (Microtec-CUT 4050, SC, USA), as amostras foram colocados em lâminas e coradas com hematoxilina/eosina. Para determinar a morfometria dos adipócitos foi utilizado um microscópio de luz (modelo BX40 Olympus, Tokyo, Japan) acoplado a uma câmera digital (Olympus DP71, Tokyo, Japan). As análises morfométricas foram realizadas nas imagens digitalizadas obtidas diretamente do microscópio e capturadas por um sistema de câmera de vídeo Optronics CCD (Optronics, Goleta, CA, EUA). Foram utilizadas pelo menos 100 perfis de adipócitos por animal selecionadas randomicamente (pelo menos 10 lâminas para cada animal). As medidas de área do adipócito foram determinadas usando o programa IMAGE-J/NHI.

4.12 Imunohistoquímica para o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e receptor ativado proliferador de peroxissomo-gama (PPAR-γ) no tecido adiposo retroperitoneal

As dosagens foram realizadas no Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade de Estado do Rio de Janeiro. Secções do tecido adiposo retroperitoneal foram submetidas a sucessivos banhos de xilol (3x, com duração de 2 minutos cada), desidratadas em concentrações decrescentes de solução de etanol e lavadas com água destilada. Peroxidase endógena foi blocada com peróxido de hidrogênio 10 volumes (3%). Após a lavagem com água e tampão fosfato, os locais antigênicos inespecíficos foram bloqueados com albumina 1% em tampão fosfato 0.1 M. As amostras foram incubadas por toda uma noite com anticorpos para VEGF e para PPAR-γ em uma diluição de 1:100 a temperatura de 4°C, seguida pela incubação com LSAB2-HRP (K0637, DAKO, CA, EUA). O marcação foi realizada com hematoxilina.

4.13. Ventrículo esquerdo

As dosagens foram gentilmente realizadas no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. Após o sacrifício dos animais o coração de cada um foi removido, lavado, e o ventrículo esquerdo foi isolado e congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80ºC para análise posterior.

O ventrículo esquerdo foi lavado três vezes com salina gelada e 25 mg deste tecido foi incubado em 2 ml de tampão de extração (10 mM de ácido cacodílico [pH 5,0]; 0.15 M NaCl; 1 μM ZnCl 2 ; 20 mM CaCl 2 ; 1.5 mM NaN 3 ; 0.01 % Triton X-100 [v/v]), a temperatura de 4°C por 24 horas. Após este procedimento, a solução foi centrifugada por 10 minutos (13,000 xg a 4°C). 20 μg de proteína total foi mensurada com kit de ensaio de proteína por BCA (Pierce, Rockford, IL, EUA). Esta foi aplicada em cada poço do gel de poliacrilamida a 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS) preparado com 1 mg/ml de gelatina. Após a eletroforese, os géis foram lavados duas vezes por 20 minutos em Triton X-100 (2,5%) para remover o SDS. Os géis foram novamente lavados e incubados em tampão de substrato (50 mM Tris-HCl (pH 8,0); 5 mM CaCl 2 ; 0,02 % NaN 3) a temperatura de 37°C por 20 horas.

Em seguida, os géis foram corados com azul de coomassie brilhante por uma hora e meia e descorados com uma solução de ácido acético:metanol:água (1:4:5) para visualização da atividade das bandas. Os géis foram fotografados com uma câmera fotográfica (Canon, modelo G6 Power Shot), de 7.1 mega pixels. A análise quantitativa da densitometria das bandas protéicas de MMP-2 vistos nos géis de zimografia, foi realizada utilizando-se o programa Gene Tools version 3.06.(Syngene, Cambridge, Reino Unido). Todos os procedimentos foram realizados seguindo o protocolo descrito por MARQUETI *et al*. (2012).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Antes da análise estatística utilizamos o teste de normalidade *Shapiro-Wilk* para determinação da distribuição gausssiana das variáveis. Todas as variáveis apresentaram distribuição normal e foram apresentadas como média ± erro padrão da média (EPM).

As variáveis massa corporal na semana 1 e a composição corporal inicial foram analisadas utilizando-se análise de variância (ANOVA) *one-way*, seguido do teste pos *hoc* de *Tukey*. A comparação da carga de treinamento, força relativa e análise da composição pré e pós treinamento foi realizada com teste *t* de *Student*. O restante das variáveis foram analisadas utilizando-se análise de variância (ANOVA) *two-way* [dieta (ração padrão vs ração hiperlipídica) vs treinamento (sedentário versus treinado)] seguido do teste post *hoc* de Tukey para múltiplas comparações. Todos os dados foram analisados pelo programa Statistica 7.0 (Stat. Soft. Tusa Inc., OK, EUA). As figuras foram elaboradas no programa Graphpad® 5 (San Diego, CA, EUA). O nível de significância adotado foi de 5% (valor de $P<0,05$).

6. RESULTADOS

6.1. Massa corporal

Os resultados de massa corporal dos animais no início do treinamento (semana 1) não apresentaram diferença estatística entre os grupos analisados. Na sexta semana do treinamento, o grupo SED-OB tinha massa corporal significativamente maior quando comparado aos grupos SED e TR ($P<0,05$; tabela 2). Não foram observadas diferenças estatísticas entre os respectivos grupos treinados (TR e TR-OB) e sedentários (SED e SED-OB).

Após 12 semanas de treinamento, os grupos tratados com dieta hiperlipídica apresentaram valores de massa corporal superiores quando comparados com os grupos com dieta padrão ($P<0,01$). O grupo TR não apresentou diferença em relação ao grupo SED. No entanto, foram observadas diferenças na comparação entre os grupos SED-OB e TR-OB ($P<0,01$), sendo que a massa corporal foi significativamente maior no grupo SED-OB.

Tabela 2. Massa corporal dos animais durante o período experimental.

	Grupos Experimentais			
	SED	**SED-OB**	**TR**	**TR-OB**
Semana 1	402,60 ± 12,76	411,51 ± 16,14	389,41 ± 16,42	400,92 ± 10,99
Semana 6	426,15 ± 15,04	493,63 ± 21,08[a]	419,38 ± 17,33[b]	452,74 ± 14,76
Semana 12	453,97 ± 14,06	566,42 ± 22,16[a]	431,52 ± 16,83[b]	500,32 ± 16,36[a,b,c]

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado $P<0,05$.

6.2. Ingestão

A análise da ingestão realizada pelos animais durante o período experimental demonstrou que os grupos SED e TR apresentaram um consumo alimentar (g/dia) estatisticamente maior (28,41% e 27,89%, respectivamente) comparado ao grupo SED-OB (P=0,0001) e TR-OB (P=0,0001). Apesar desta diferença não houve diferença significativa entre os grupos para a ingestão energética (kcal/dia) (P>0,05; tabela 3).

Devido às diferentes composições das dietas o consumo de carboidratos, gorduras e proteínas foi diferente entre os grupos alimentados com dieta padrão comparada a hiperlipídica. Os grupos SED-OB e TR-OB mostraram um consumo significativamente maior de gorduras (P=0,0001) e menor de carboidratos (P=0,0001) e proteínas (P=0,0001) quando comparados aos grupos SED e TR.

Tabela 3. Análise dietética da ingestão alimentar durante o período experimental**.**

	SED	**SED-OB**	**TR**	**TR-OB**
Consumo alimentar (g/dia)	23,72 ± 0,88	16,98 ± 0,47[a]	22,76 ± 0,75[b]	16,41 ± 0,50[a,c]
Consumo energético (kcal/dia)	101,52 ±3,79	93,41 ± 2,62	97,41 ± 3,22	90,25 ± 2,75
Carboidratos (g/dia)	16,84 ± 0,62	9,32 ±0,26[a]	16,16 ± 0,53[b]	9,02 ± 0,27[a,c]
Gordura (g/dia)	1,42 ± 0,05	5,09 ± 0,14[a]	1,36 ± 0,04[b]	4,92± 0,15[a,c]
Proteína (g/dia)	5,45 ± 0,20	2,54 ± 0,07[a]	5,23 ± 0,17[b]	2,46 ± 0,07[a,c]

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB;[c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.3. Carga de carregamento e força relativa

A carga de carregamento não apresentou diferença estatística entre os grupos treinados após 12 semanas de treinamento. Entretanto, nas duas primeiras semanas foi possível observar diferença nesta variável entre os grupos com maiores valores de carga no grupo TR-OB (P<0,01) comparado com TR. Nas semanas seguintes, não observamos diferenças entre os grupos (figura 10). A força relativa foi superior no grupo TR quando comparado com o grupo TR-OB (P<0,01; figura 11).

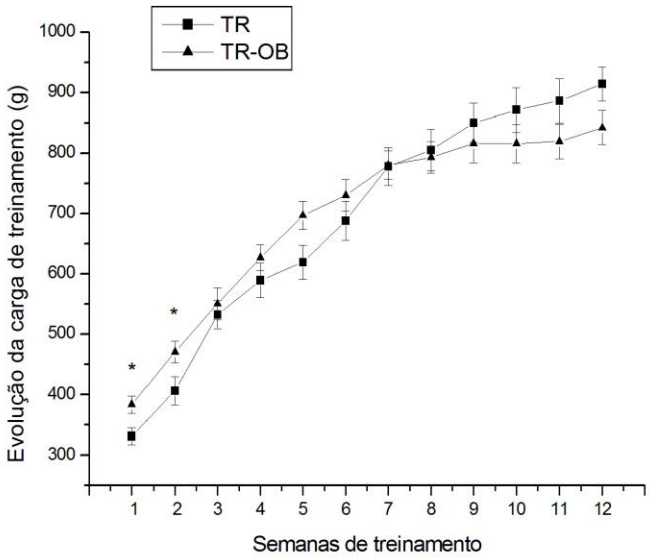


Figura 10. Evolução da carga de treinamento durante o período experimental. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. * diferença estatística entre os grupos. Nível de significância adotado P<0,05.

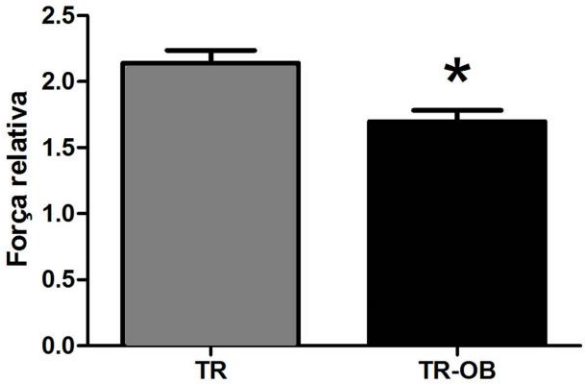


Figura 11. Força relativa dos grupos treinados após o período experimental. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. * diferença estatística entre os grupos. Nível de significância adotado P<0,05.

6.4. Avaliação da composição corporal.

Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais quando analisamos as variáveis de composição corporal antes do início do treinamento resistido. Os grupos experimentais apresentaram um aumento significativo na quantidade de massa magra quando comparamos o momento pré com o pós-treinamento ($P<0,05$). O mesmo resultado foi observado para as variáveis massa gorda, percentual de gordura total e troncular nos grupos SED, SED-OB e TR-OB ($P<0,05$). Contrário a estes resultados, o grupo TR apresentou uma diminuição significativa no percentual de gordura total ($P<0,05$) e não demonstrou modificação significativa para as variáveis massa gorda e percentual de gordura do tronco ($P>0,05$; tabela 4).

Os resultados da composição corporal demonstraram ainda que após 12 semanas de treinamento, o grupo TR apresentou um menor percentual de gordura corporal, massa gorda, gordura troncular, além de mais massa magra quando comparado aos grupos sedentários (SED e SED-OB) e ao grupo TR-OB ($P<0,01$). Já este grupo (TR-OB) apresentou maior percentual de gordura, massa gorda e percentual de gordura troncular em comparação com o grupo SED. Apesar desse resultado, a massa magra não apresentou diferença estatística entre os dois grupos. O grupo SED-OB apresentou maior percentual de gordura corporal, massa gorda, percentual de gordura troncular e menos massa magra quando comparados aos grupos: SED ($P<0,001$), TR ($P<0,001$) e TR-OB ($P<0,001$).

Tabela 4. Dados da composição corporal antes e após o período de treinamento.

	SED		SED-OB		TR		TR-OB	
	Pré	**Pós**	**Pré**	**Pós**	**Pré**	**Pós**	**Pré**	**Pós**
MM (g)	229,60 ± 7,39	260,80 ± 10,97*	231,91 ± 6,03	217,60 ± 8,63*,a	227,80 ± 12,62	288,53 ± 10,40*,a,b	228 ± 7,25	247,87 ± 9,67*,b,c
MG (g)	139,5 ± 6,81	177,1 ± 9,92*	153,1 ± 12,23	292,6 ± 20,32*,a	128,6 ± 4,80	127,4 ± 9,51a,b	148,3 ± 8,16	231 ± 13,88*a,b,c
% Gordura total	37,54 ± 1,38	40,41 ± 1,61	38,58 ± 1,81	55,71 ± 1,43*	36,29 ± 1,36	30,70 ± 1,62*,a,b	39,21±1,59	48,13 ± 1,82*,a,b,c
% Gordura tronco	35,19 ± 0,91	40,41 ± 1,58*	37,98 ± 1,42	54,29 ± 1,24*,a	33,99 ± 1,28	29,88 ± 1,69a,b	39,20 ± 1,68	46,84 ± 1,68*,a,b,c

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. MM = massa magra; MG = massa gorda; % Gordura total = Percentual de gordura total; % Gordura tronco = Percentual de gordura do tronco. * diferença estatística entre o momento pré e pós. [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.5. Densidade mineral óssea e conteúdo mineral ósseo total

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais para a densidade mineral óssea total (figura 12A). Em contrapartida, o conteúdo mineral ósseo foi significativamente maior no grupo SED-OB comparado aos grupos SED (p=0,05) e TR (P<0,05; figura 12B).

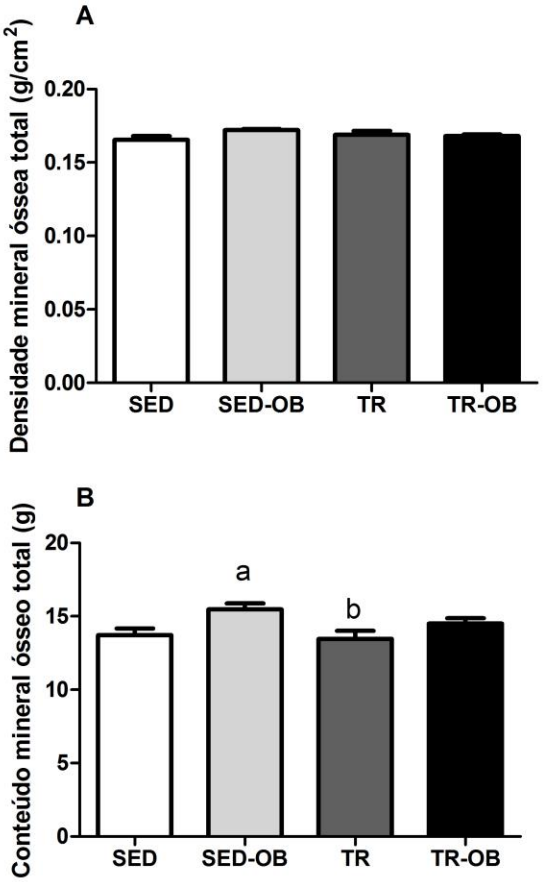


Figura 12. Densidade mineral óssea (A) e conteúdo mineral ósseo total (B) dos grupos experimentais**.** Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; [a] em comparação com o grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.6. Depósitos de gordura

O grupo SED-OB exibiu maior deposição de gordura epididimal, retroperitoneal e mesentérica, bem como, a maiores valores para soma total dos três depósitos de gordura comparado aos grupos experimentais SED e TR (P<0,05; tabela 5). Quando comparado com o grupo TR-OB foram observadas diferenças para os depóstios de gorduras retroperitoneal, mesentérica e a soma dos três depósitos (P<0,01).

O grupo TR apresentou menor deposição de gordura quando comparado com o grupo TR-OB para todos os depósitos analisados (P<0,01). Já em comparação ao grupo SED, foram observadas diferenças para as gorduras mesentérica e a soma das três gorduras (P<0,01).

Os depósitos de gordura retroperitoneal e mesentérico não foram diferentes entre os grupos TR-OB e SED (P<0,01), não sendo observado diferença estatística no depósito epididimal e a soma dos três depósitos.

Tabela 5. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de força no peso relativo dos tecidos adiposos (g/100 g do peso corporal).

	Grupos experimentais			
	SED	**SED-OB**	**TR**	**TR-OB**
EPI	2,21 ± 0,13	3,07 ± 0,11[a]	1,78 ± 0,08[b]	2,87 ± 0,22[a,c]
RET	1,66 ± 0,11	2,91 ± 0,24[a]	1,28 ± 0,14[b]	1,95 ± 0,13 [b,c]
MES	2,93 ± 0,23	4,81 ± 0,30[a]	1,90 ± 0,16[a,b]	3,67 ± 0,26[b,c]
SOMA	6,81 ± 1,25	10,80 ± 1,34[a]	4,97 ± 0,92[a,b]	8,44 ± 1,56[a,b,c]

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; EPI = Gordura epipidimal; RET = Gordura retroperitoneal; MES = Gordura mesentérica; SOMA = Soma dos três depósitos de gordura; [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.7. Percentual de gordura tecidual.

6.7.1 Percentual lipídico do ventrículo esquerdo

Não foram observadas diferenças quando comparados os dois grupos sedentários (SED e SED-OB, P>0,05; figura 13). Entretanto, ao compararmos os grupos treinados (TR e TR-OB) esta diferença foi notada. O grupo TR-OB apresentou valores superiores na concentração de lipídios no ventrículo esquerdo quando comparado com o TR (P<0,05). Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos sedentários (SED e SED-OB) e também entre os grupos treinados (TR e TR-OB).

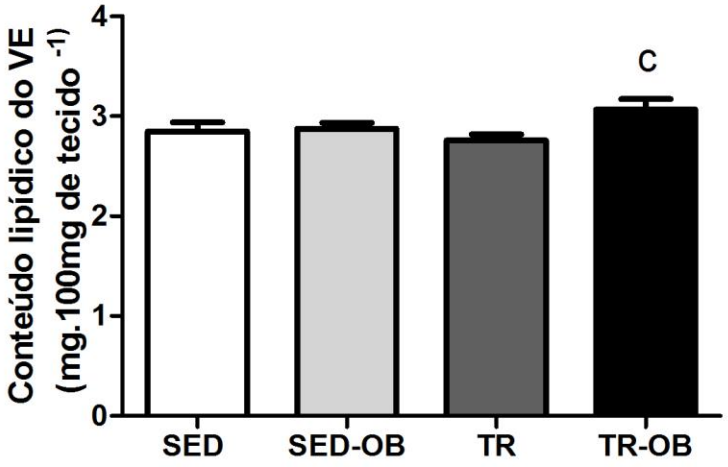


Figura 13. Conteúdo lipídico do ventrículo esquerdo**.** Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso. [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.7.2. Conteúdo lipídico do fígado

Em relação ao conteúdo lipídico do fígado, foram observadas diferenças estatísticas ao compararmos os dois grupos sedentários (SED e SED-OB, P<0,05; figura 14). O grupo SED-OB apresentou o conteúdo lipídico do fígado maior que o grupo SED (P<0,01) e TR (P<0,01). Não houve diferença estatística entre os grupos treinados. Além disso, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos SED-OB e TR-OB.

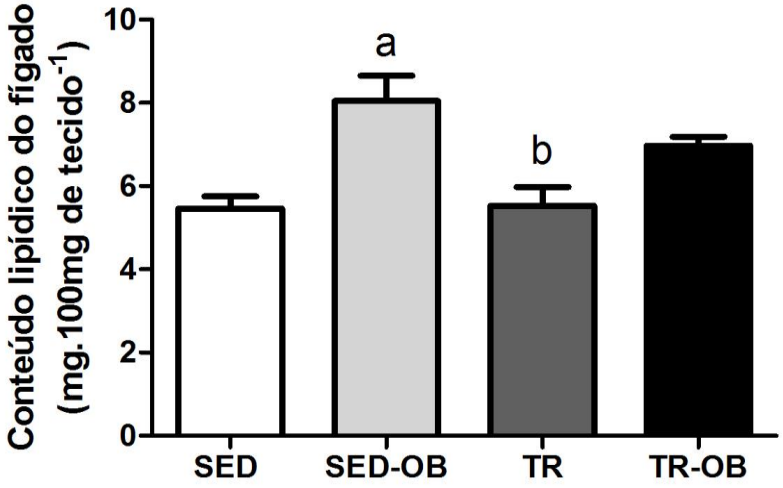


Figura 14. Conteúdo lipídico do fígado. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.7.3. Conteúdo lipídico dos músculos esqueléticos bíceps e gastrocnêmio.

Não houve diferença estatística entre os grupos analisados. Entretanto, existe uma aparente diferença biológica entre os grupos. Foram observados valores maiores de conteúdo lipídico nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica em comparação com aqueles alimentados com dieta padrão (figuras 15A e 15B).

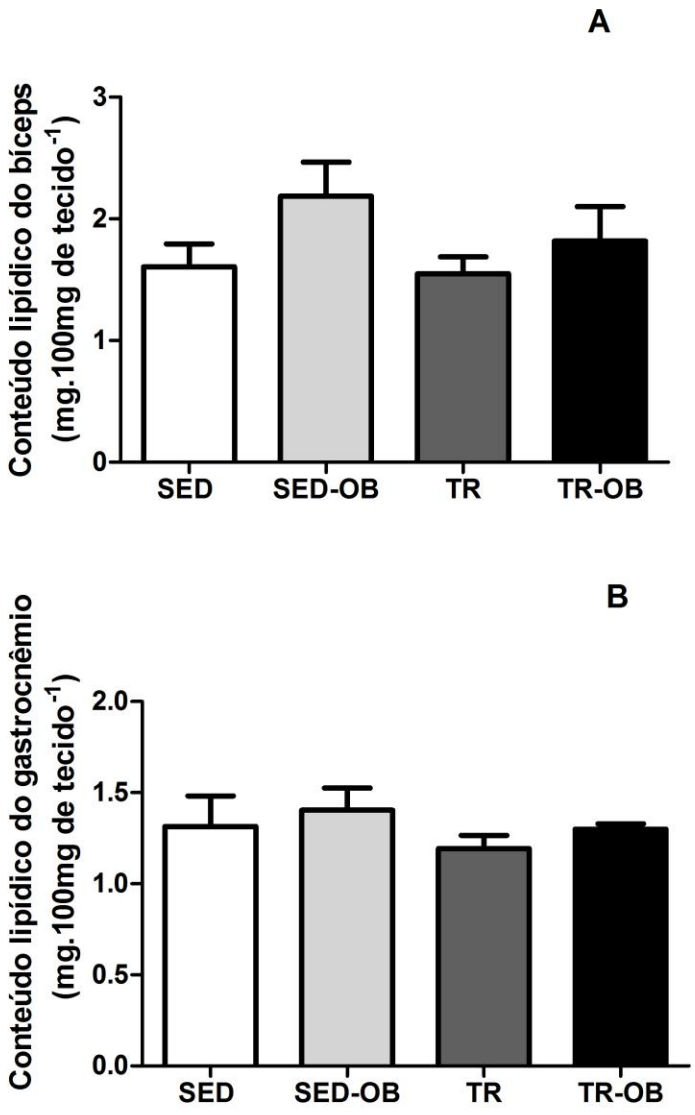
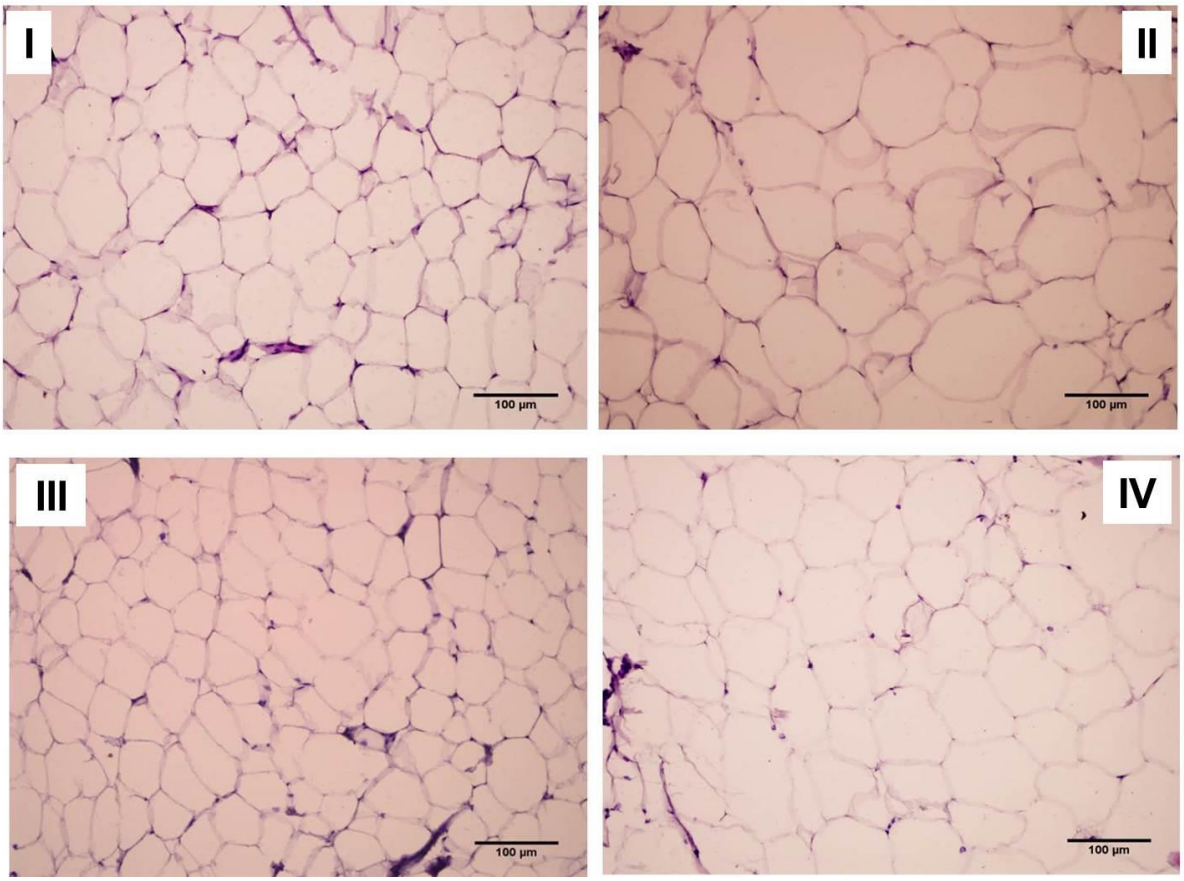


Figura 15. Conteúdo lipídico do bíceps (**A**) e gastrocnemius (**B**). Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário Obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.8 Área de adipócito da gordura retroperitoneal e expressão imunohistoquímica do receptor ativado proliferador de peroxissomo-γ (PPAR-γ) e fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF).

O grupo SED-OB apresentou uma área do adipócitos significativamente maior quando comparado aos grupos: SED ($P<0,001$), TR ($P<0,01$) e TR-OB ($P<0,01$). Enquanto, este último apresentou apresentou valores significativamente maiores quando comparado com os grupos SED ($P<0,05$) e TR ($P<0,05$; figura 16).

Foi possível observar uma maior expressão de PPAR-γ nos grupos treinados quando comparados com os sedentários (figura 17). O mesmo resultado foi observado quando analisamos a expressão de VEGF nos grupos treinados comparados com os sedentários (figura 18).



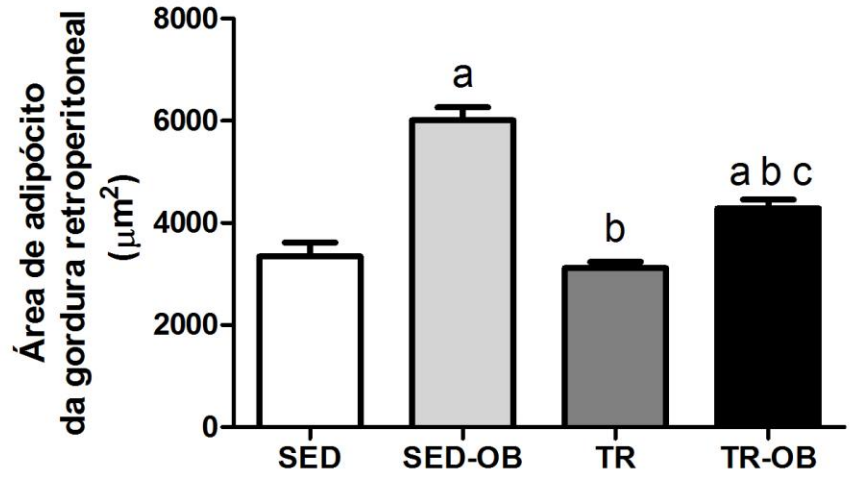


Figura 16. Análise da área do tecido adiposo retroperitoneal. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). SED = Grupo sedentário (**I**); SED-OB = Grupo sedentário obeso (**II**); TR = Grupo treinado (**III**); TR-OB = Grupo treinado obeso (**IV**); [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

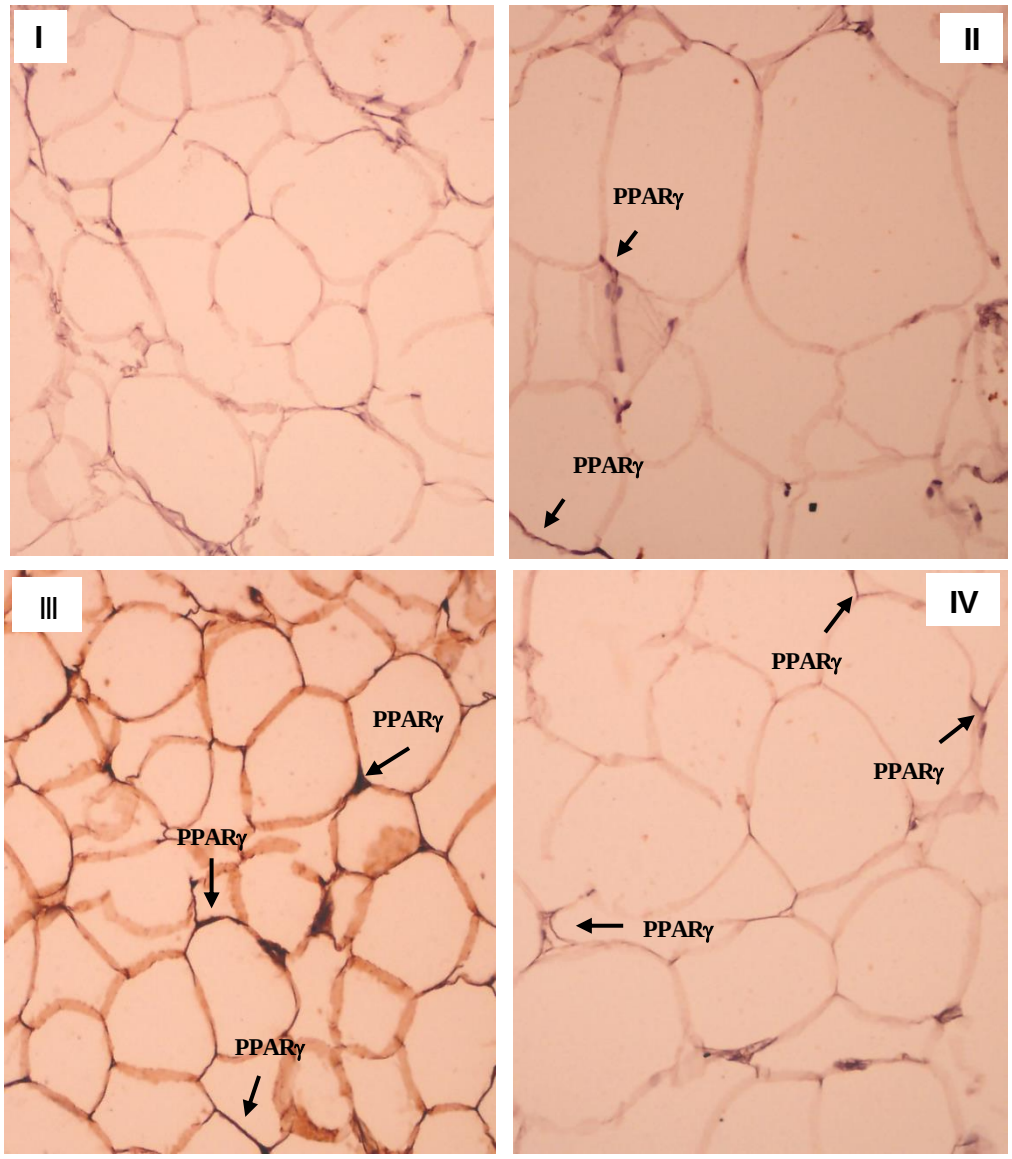


Figura 17. Fotomicrografia da expressão imunohistoquímica de PPAR-γ do tecido adiposo retroperitoneal.I= grupo sedentário; II = grupo sedentário obeso; III = grupo treinado e IV = grupo treinado obeso. Aumento de 200x.

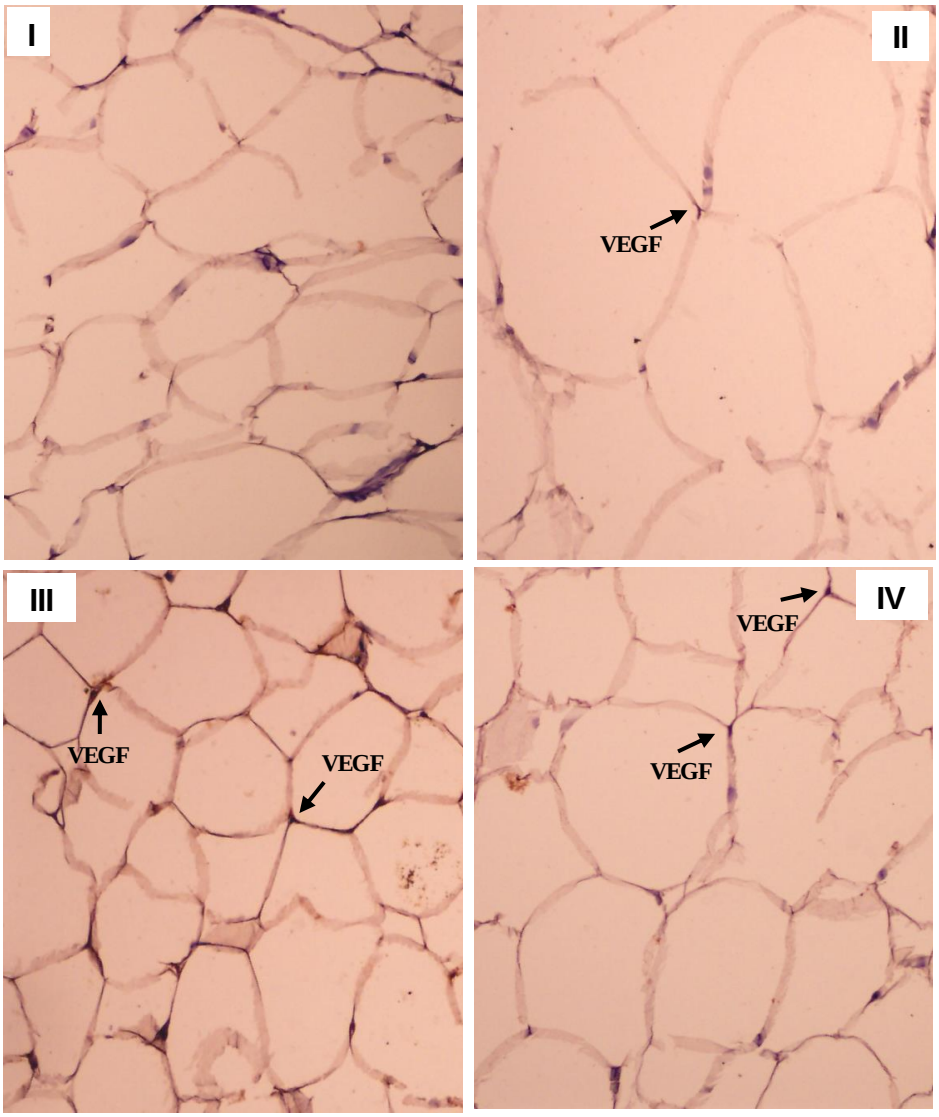


Figura 18. Fotomicrografia da expressão imunohistoquímica de VEGF do tecido adiposo retroperitoneal I = grupo sedentário; II = grupo sedentário obeso; III = grupo treinado; e IV = grupo treinado obeso. Aumento de 200x.

6.9. Pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM)

O grupo SED-OB apresentou maiores valores de PAS, PAD e PAM em relação aos grupos SED, TR e TR-OB (P<0,05; tabela 6). Já o grupo TR apresentou valores menores de PAS e PAM quando comparados com os grupos SED-OB e RT-OB (P<0,05).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos TR e SED. Os grupos experimentais SED, RT e RT-OB não apresentaram diferença estatística quando analisamos a PAD. Contrário a estes resultados, os valores desta variável dos grupos SED, TR e TR-OB foram menores comparados ao grupo SED-OB (P<0,001). A PAM foi estatisticamente superior quando comparada com o grupo TR (P<0,001).

Tabela 6. Efeito da dieta hiperlipídica e treinamento resistido nos parâmetros cardiovasculares.

	Grupos experimentais			
	SED	**SED-OB**	**TR**	**TR-Ob**
PAS (mmHg)	121,10 ± 3,99	146,36 ± 4,36[a]	117,60 ± 2,26[b]	127,52 ± 2,51[b,c]
PAD (mmHg)	94,13 ± 2,91	116,45± 3,28[a]	90,38 ± 1,48[b]	96,25 ± 2,93[b]
PAM	105,40 ± 2,00	121,61 ± 2,06[a]	99,13 ± 0,95[b]	106,3 ± 2,43[b,c]

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; [a] em comparação com o grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.10. Medidas do coração e do ventrículo esquerdo e suas relações com a massa corporal e magra

A variável massa do coração, massa do ventrículo esquerdo (VE) e massa VE/massa corporal não apresentaram diferenças entre os grupos experimentais. A variável massa coração/massa corporal foi menor no grupo SED-OB quando comparado com os grupos SED (P=0,001), TR (p=0,001) e TR-OB (P=0,001; tabela 7).

A variável massa do VE/massa magra foi menor nos grupos SED e TR quando comparados com os grupos SED-OB e TR-OB. Além disso, o grupo TR-OB mostrou menor valor desta mesma variável quando comparada com SED-OB (P<0,001).

Tabela 7. Medidas da massa do coração e ventrículo esquerdo dos grupos experimentais após o período de treinamento resistido

	SED	**SED-OB**	**TR**	**TR-OB**
Massa coração (g)	1,35 ± 0,04	1,34 ± 0,03	1,28 ± 0,05	1,39 ± 0,05
Massa VE (g)	0,49 ± 0,01	0,62 ± 0,03	0,53 ± 0,03	0,62 ± 0,03
Massa coração/MC (mg/g)	3,00 ± 0,10	2,37 ± 0,05[a]	2,97 ± 0,05[b]	2,81 ±0,15[b]
Massa VE/ MC(mg/g)	1,10 ± 0,04	1,10 ± 0,05	1,25 ± 0,11	1,26 ± 0,08
Massa VE/MM(g/g)	0,0019 ±0,0001	0,0028 ±0,0001[a]	0,0018 ±0,0001[b]	0,0025 ±0,0001[b,c]

Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n=8). SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; Peso VE = Peso do ventrículo esquerdo; MC = massa corporal; MM = massa magra; [a] em comparação com o grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05.

6.11. Atividade da metaloproteinase do tipo 2 no ventrículo esquerdo.

Em relação a MMP-2 pró, os grupos treinados apresentaram valores superiores de sua atividade no ventrículo esquerdo quando comparados com os grupos sedentários ($P<0,05$; figura 19). Além disso, o grupo SED-OB apresentou valores superiores quando comparado com o grupo SED ($P<0,05$).

A atividade da MMP-2 intermediária no grupo SED-OB foi inferior comparada com os grupos SED ($P=0,01$), TR ($P<0,001$) e TR-OB ($P<0,01$). Entretanto, não foram observadas diferenças nas atividades da MMP-2 pró e intermediária entre os grupos treinados. A atividade da MMP-2 ativa não foi diferente entre os grupos experimentais. Apesar de não atingir nível de significância estatística, foi possível observar uma tendência a uma maior atividade da MMP-2 ativa no grupo TR ao compará-lo com o grupo SED-OB ($P=0,06$).

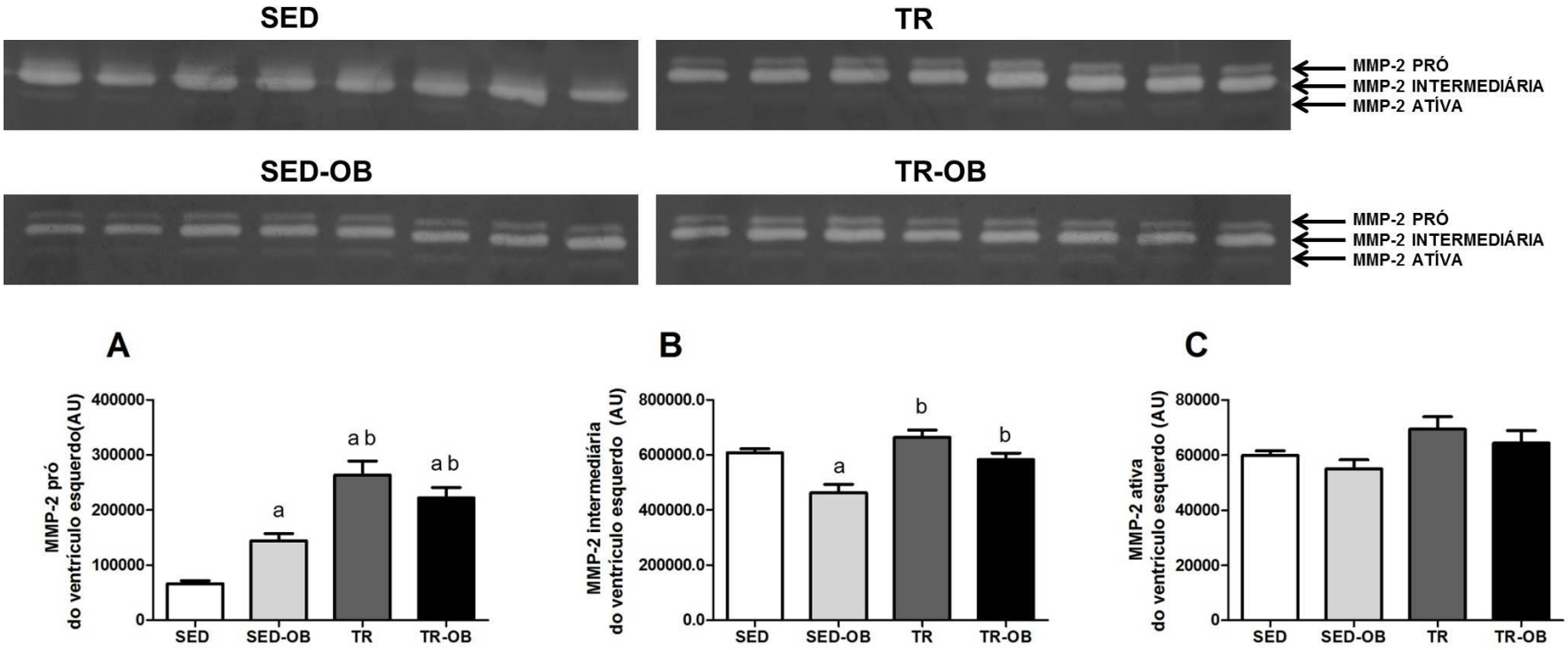


Figura 19. Efeito do treinamento resistido e dieta hiperlipídica na MMP-2 pró (A), intermediária (B) e ativa (C) no ventrículo esquerdo. Os géis foram analisados pela densitometria e atividade (62 kDa) foi expressa como unidade arbitrária (AU). Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média(n=8). MMP-2 = Metaloproteinase do tipo 2; SED = Grupo sedentário; SED-OB = Grupo sedentário obeso; TR = Grupo treinado; TR-OB = Grupo treinado obeso; [a] em comparação ao grupo SED; [b] em comparação ao grupo SED-OB; [c] em comparação ao grupo TR. Nível de significância adotado P<0,05

6.12 Interações entre dieta hiperlipídica e o treinamento resistido

A dieta hiperlipídica e o treinamento resistido demonstraram interações significativas para as seguintes variáveis: massa gorda ($P<0,05$), percentual de gordura do tronco ($P<0,05$), área de adipócito ($P<0,001$), conteúdo lipídico do coração ($P<0,05$), MMP-2 pró ($P<0,01$), PAM ($P<0,05$) e massa do coração/massa corporal ($P<0,05$).

O treinamento resistido influênciou a massa corporal ($P<0,05$), massa magra ($P<0,001$), percentual de gordura total ($P<0,001$), peso relativo da gordura epididimal($P<0,001$), retroperitoneal ($P<0,001$) e mesentérica ($P<0,001$), soma dos três depósitos de gorduras ($P<0,001$), massa do ventrículo esquerdo ($P<0,01$), massa do ventrículo esquerdo/massa corporal ($P<0,05$), PAS ($P<0,05$), PAD ($P<0,01$), MMP-2 intermediária ($P<0,01$) e MMP-2 ativa ($P<0,05$).

A dieta influênciou a massa corporal ($P<0,001$), consumo alimentar ($P<0,001$), consumo energético ($P<0,05$), massa magra ($P<0.01$), percentual de gordura ($P<0.01$), PAS ($P<0.001$) e PAD ($P<0.05$), conteúdo mineral ósseo ($P<0,01$), conteúdo lipídico do coração($P<0,05$), conteúdo lipídico do fígado ($P<0,001$), peso relativo da gordura epididimal($P<0,05$), retroperitoneal ($P<0,001$) e mesentérico ($P<0,001$), soma dos três depósitos de gordura($P<0,001$),), massa do ventrículo esquerdo ($P<0,05$), massa ventrículo esquerdo/massa magra ($P<0,001$) e MMP-2 intermediária ($P<0,001$)

7. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou se o treinamento resistido realizado durante 12 semanas em ratos alimentados com dieta hiperlipídica poderia alterar a composição corporal, a atividade da MMP-2 no músculo do ventrículo esquerdo, a pressão arterial, a adiposidade, a área de adipócitos e a expressão de VEGF e da PPAR-γ no tecido adiposo retroperitoneal.

Os resultados demonstraram que esta modalidade de treinamento empregada neste estudo promoveu, concomitantemente, reduções na massa corporal, na massa de gordura, no percentual de gordura total e tecidual e na área de adipócitos e ainda elevou a quantidade de massa magra, independe da dieta. Foi possível também demonstrar reduções nos níveis pressóricos sistólico e diastólico, além de uma maior expressão da VEGF e PPAR-γ no tecido adiposo retroperitoneal. Por fim, o treinamento resistido também induziu maior atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo. Esses achados apontam que o treinamento resistido pode ser uma estratégia não-farmacológica contra os efeitos deletérios do consumo de uma dieta rica em gordura, com impacto em vários sistemas fisiológicos relacionados com a gênese de comorbidades associadas à obesidade.

Assim, nossa hipótese inicial foi confirmada com a demonstração de que o treinamento resistido pode promover concomitantemente mudanças positivas na composição corporal, na adiposidade, nos níveis de pressão arterial e no remodelamento cardíaco. A relevância clínica destes achados é baseada no fato de que a excessiva adiposidade em resposta ao balanço energético positivo tem sido considerada um fator importante para o aparecimento de comorbidades associadas à obesidade (TINAHONES *et al.*, 2012a), resultando em um aumento nas doenças cardiovasculares e da insuficiência cardíaca (SAITO, ASAI & SATO, 2012). Talvez o hábito do treinamento resistido adquirido por um indivíduo exposto a um ambiente obesogênico possa prevenir ou retardar o aparecimento de algumas comorbidades.

Os resultados deste estudo demonstraram que o consumo da dieta hiperlipídica proposta determina importantes alterações na massa e composição corporal, demonstrando que a massa corporal foi significativamente maior nos grupos alimentados com esta dieta em comparação com aqueles alimentados com a ração padrão. Este achado é corroborado por evidências científicas previamente publicadas (ROPELLE *et al.*, 2010; PANVELOSKI-COSTA *et al.*, 2011; SPERETA *et al.*, 2012). No entanto, apesar de observarmos uma aparente redução na massa corporal do grupo TR, não houve diferença estatística deste em comparação com o grupo SED ao final das 12 semanas de treinamento.

É relevante salientar que, os resultados do consumo alimentar (g/dia) foram significativamente diferentes entre os grupos alimentados com ração hiperlipídica e ração padrão. Os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram um consumo alimentar significativamente menor quando comparados com aqueles alimentados com a dieta padrão. No entanto, quando analisamos o consumo energético diário (kcal/dia) não observamos esta diferença entre os grupos. Esse resultado se deve principalmente ao valor calórico de cada tipo de ração e estudos anteriores observaram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica ingeriam maior consumo calórico, porém com menor consumo alimentar (BURNEIKO *et al.*, 2006; SENE-FIORESE *et al.*, 2008; SPERETTA *et al*, 2012). Esse tipo de comportamento alimentar observado em animais pode ser atribuído à diminuição na eficiência alimentar e aumento na eficiência metabólica associado ao consumo de uma dieta rica em lipídios (SPERETTA *et al.*, 2012). Neste sentido, os resultados do presente estudo sugerem que os ratos alimentados com dieta hiperlipídica sofrem influência do conteúdo energético e do alto teor de gordura da dieta e, em decorrência do mecanismo de saciedade, são estimulados a consumir uma menor quantidade de alimento (HIMAYA *et al.*, 1997; KRETSCHMER *et al.*, 2005).

Neste estudo, não observamos uma influência do treinamento resistido no consumo calórico e energético naqueles grupos submetidos ao treinamento, apesar de estudos demonstrarem que o exercício pode levar a diminuição da ingestão alimentar (ROPELLE *et al.*, 2010; SPERETTA *et al.*, 2012). O mecanismo pelo qual o exercício pode modificar a ingestão alimentar em ratos foi demonstrado por ROPELLE *et al.* (2010). Neste estudo, os autores demonstraram que o exercício aeróbio aumentou a expressão hipotalâmica da IL-6 e IL-10, resultando em aumento na sensibilidade à insulina e a leptina neste tecido através da inibição do complexo quinase Iκβ (IκKβ) e redução do estresse no retículo endoplasmático. A melhora da sensibilidade hipotalâmica à ação da leptina e também da insulina favoreceu a saciedade nestes animais e a consequente redução na ingestão alimentar quando comparados com aqueles animais não-treinados. Por conseguinte, a diminuição da ingesta alimentar somado ao aumento no gasto energético, ambos promovidos pelo execício, podem influenciar no ganho de massa corporal ao longo do período de treinamento. Apesar de não observarmos diferença na ingesta alimentar daqueles animais submetidos à dieta hiperlipídica, ainda assim os animais treinados (TR e TR-OB) apresentaram valores menores de massa corporal quando comparados com os grupos sedentários (SED e SED-OB), demostrando que o treinamento resistido pode ser uma ferramenta eficiente para evitar o ganho de peso ao longo do tempo.

Os resultados observados estão também associados com mudanças significativas na composição corporal. Foi possível demonstrar que o treinamento resistido pode aumentar a massa magra e diminuir a massa gorda, o percentual de gordura total e troncular quando comparado com os respectivos grupos sedentários. No entanto, quando analisados os grupos treinados se torna evidente que a dieta é um fator que influencia fortemente o resultado da composição corporal, já que valores significativamente maiores foram observados no grupo TR-OB em comparação ao TR nos componentes da composição corporal, independente da carga de carregamento empregada no treinamento de ambos os grupos. A ausência de diferença em relação a carga de carregamento demonstra que os animais treinados, foram submetidos a uma intensidade de exercício semelhante, independente da dieta. No entanto, quando analisamos a força relativa, ou seja, a divisão da carga de carregamento pela massa corporal no final do período experimental nota-se um valor maior para esta variável para o grupo TR em comparação ao TR-OB. Apesar deste resultado, fica claro que o treinamento resistido de alta intensidade pode modificar positivamente a composição corporal em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

O mecanismo responsável pela melhora da composição corporal pode estar ligado a dois fatores principais: o gasto energético, durante e após a sessão de treinamento, e o aumento da massa magra, com consequente elevação da taxa metabólica basal, maiores gasto calórico e oxidação de gorduras, durante e após a sessão de treinamento (DONNELLY *et al*., 2009).

Este é o primeiro estudo a demonstrar o impacto de 12 semanas de treinamento resistido de alta intensidade na composição corporal de ratos alimentados com dieta hiperlipídica medido por DEXA. Isto permite uma análise mais detalhada do efeito desta modalidade como ferramenta para atenuar os efeitos do consumo da dieta hiperlipídica e o aumento do tecido adiposo em ratos.

Uma série de evidências científicas mostram que o consumo de dietas ricas em gorduras estão associadas ao aumento da adiposidade e aos depósitos de gorduras ectópicas, bem como, à hipertensão, à alterações nos perfis lipídico e inflamatório e ainda à prejuízo na homeostase da glicose e à alterações cardíacas importantes em ratos (BRADLEY *et al.*, 2008, PINHEIRO *et al*., 2007; SENE-FIORESE *et al.*, 2008; GOLLISCH *et al.*, 2009, SPERETTA et al., 2012).

No presente estudo, o consumo da dieta hiperlipídica exerceu forte influência no aumento da deposição de gordura, evidenciado pelo aumento dos depósitos de gordura retroperitoneal e mesentérico, além da gordura ectópica no coração, fígado e músculos

esqueléticos. O protocolo de treinamento foi capaz de reduzir principalmente os depósitos de gordura retroperitoneal, mesentérico e a variável soma dos três depósitos de gordura. Além disso, observamos que a concentração de lipídios teciduais foi menor nos grupos treinados quando comparados aos sedentários.

Evidências científicas corroboram estes achados, visto que o consumo da dieta hiperlipídica pode promover aumentos significativos no peso relativo das gorduras e na área de adipócitos (SCHRAUWEN & WESTERTERP, 2000; GAUTHIER *et al.*, 2003; ESTADELLA *et al.*, 2004; GUERRA *et al.*, 2007; PINHEIRO *et al.*, 2007, SENE-FIORESE *et al.*, 2008). No entanto, ainda são escassos estudos que analisam o impacto do treinamento resistido na adiposidade e na área de adipócitos. Neste sentido, LEITE *et al.* (2009) e SPERETTA *et al.* (2012) demonstraram que, o treinamento resistido foi capaz de diminuir a adiposidade, a área de adipócitos, bem como o percentual de lipídios no músculo esquelético e fígado.

Além disso, o conteúdo lipídico do fígado tem demonstrado sofrer fortes influências do exercício. A expressão de fatores transcricionais que regulam o conteúdo lipídico hepático, como o receptor ativado proliferador de peroxissomo alfa (PPAR-α), a proteina 1-C ligadora do elemento regulado por esteróis (SREBP-1c) e a esteroil coenzima-A dessaturase (SCD-1), todas estas relacionadas com a lipogênese; estão diminuídas no fígado daqueles animais que realizavam o treinamento resistido(PAQUETTE *et al.*, 2008. DOBRZYN *et al.*, 2004, DOMINGOS *et al.*, 2011). Desse modo apesar de não ter sido testada no presente estudo, podemos especular que o treinamento resistido pode induzir a ativação de outra enzima, a monofosfato de adenosina kinase (AMPK), com subsequente decréscimo na expressão dos fatores de transcrição relacionados à lipogênese, melhorando a oxidação de gorduras no fígado e subsequente redução do conteúdo lipídico neste órgão.

Descreve-se que o treinamento resistido exige a participação de vários grupamentos musculares durante sua execução para a ação de subida do aparato de treinamento proposto neste estudo (PIGHON *et al.*, 2009). É possível que a redução do conteúdo lipídico no músculo pode ter sido afetado pela ativação muscular ocorrida durante a subida, além da característica metabólica oxidativa dos músculos esqueléticos envolvidos nesta modalidade de treinamento empregada. Um dos mecanismos que pode explicar esta diminuição se refere também a ativação da mesma via metabólica da AMPK, que também está envolvida no metabolismo oxidativo de lipídios no músculo esquelético e no tecido adiposo. Sua ativação ocorrida durante e após o exercício promove oxidação de gordura nestes tecidos (RUDERMAN *et al.*, 2003; LAVOIE & GAUTHIER, 2006).

Outro provável mecanismo que envolve a diminuição dos depósitos de gordura e da concentração de lipídios teciduais se refere as mudanças metabólicas exercício-induzidas, expressas por elevação das catecolaminas plasmáticas e pela ativação subsequente da lipase hormônio-sensivel. Dessa forma, noradrenalina e adrenalina estão associadas com a oxidação lipídica do tecido adiposo visceral pelo aumento da função dos receptores β3-adrenérgicos e uma diminuição na ativação dos receptores α2-adrenérgicos (CHAPADOS *et al.*, 2008).

Nossos resultados também demonstram uma maior expressão do PPAR-γ no tecido adiposo. Evidências científicas têm mostrado que a realização do exercício pode afetar a sinalização metabólica através da ativação deste receptor. Este fato pode promover benefícios cardiovasculares e anti-anterogênicos (BUTCHER *et al.*, 2008; YAKEU *et al.*, 2010, RUSHKE *et al.*, 2010). RUSCHKE *et al.* (2010) demonstraram que o exercício realizado por quatro semanas pode aumentar a expressão de PPAR-γ no músculo esquelético e no tecido adiposo, com impacto benéfico na sensibilidade à insulina. Secundariamente a esta ativação, pode-se relacionar benefícios potenciais na expressão de adiponectina, IL-6, TNF-α, PAI-1, angiotensinogênio, e ainda, uma redução da concentração sérica de ácidos graxos não-esterificados (PUIGSERVER & SPIELGEMAN, 2003).

Pesquisas recentes têm sugerido que a hipóxia do tecido adiposo pode ocorrer secundariamente ao acúmulo excessivo deste tecido, com consequente déficit de vasculatura por área de tecido adiposo (ELIAS *et al.*, 2012; TINAHONES *et al.*, 2012b). Este talvez possa ser o fator deflagrador do processo inflamatório neste tecido, já que foi demonstrado que esta hipóxia relativa é capaz de recrutar macrófagos para o tecido adiposo (ELIAS *et al.*, 2012). Como resposta compensatória em decorrência desta hipóxia tecidual há um aumento do VEGF, o que promoveria a formação de novos vasos no intuito de reduzi-la. Este estudo mostrou que a expressão do VEGF está aumentada nos animais que realizaram o treinamento resistido. Recentemente foi observado que o treinamento aeróbio induz ao aumento da expressão de VEGF no tecido adiposo em ratos alimentados com dieta padrão e camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (HATANO *et al.*, 2011; BAYNARD *et al.*, 2012). Assim, esta modalidade de exercício empregada pode induzir a uma resposta compensatória do tecido adiposo para prevenir a hipertrofia do adipócito associado à redução na quantidade de oxigênio local e aumento na expressão de VEGF (BAYNARD *et al.*, 2012). Nossas observações testadas neste estudo, sugerem um potencial papel protetor ao tecido adiposo induzido pelo treinamento resistido, possivelmente com maior demanda à formação de novos vasos neste tecido naqueles animais submetidos ao treinamento e consequentemente, embora não testado,um menor grau de inflamação.

Os excessos de massa corporal e adiposidade estão ligados ao aumento da frequência cardíaca, do volume sanguíneo, bem como ao aumento da pressões arteriais sistólica e diastólica (KENCHAIAH *et al.*, 2002). A sobrecarga cardíaca imposta por estas alterações pode influenciar o remodelamento cardíaco, manifestado por alterações na estrutura e função do miocárdio. Como descrito anteriormente, o estresse crônico que o sistema cardiovascular está submetido pode alterar a matriz extracelular, a partir do desequilíbrio entre as MMPs e seus inibidores teciduais, resultando em um remodelamento alterado (SCHRAM & SWEENEY *et al.*, 2008; ABEL, LITWIN & SWEENEY 2008; SCHRAM *et al.*, 2011).

O remodelamento do tecido cardíaco está intimamente ligado com a patogênese de algumas alterações que atingem o miocárdio induzidas pela obesidade. Esse envolve a degradação de colágeno, fundamental na manutenção da integridade estrutural do tecido miocárdico. No entanto, em determinadas condições como o infarto do miocárdio, a hipertensão arterial e até mesmo a insuficiência cardíaca observa-se um remodelamento patológico. Previamente, demonstrou-se que a degradação alterada da matriz extracelular pelas MMPs, especialmente a MMP-2, esteve correlacionada com o desenvolvimento de desordens cardiovasculares incluindo: aterosclerose, insuficiência cardíaca congestiva, infarto do miocárdio, cardiomiopatia e hipertrofica do ventrículo esquerdo, patologias estas relacionadas à obesidade (AHMED *et al.*, 2006).

O remodelamento da matriz extracelular no tecido cardíaco induzido pela obesidade contribui para anormalidades cardíacas funcionais e estruturais que culminam em mudanças da composição dos cardiomiócitos da matriz extracelular (ZIBADI *et al.*, 2011). A consequente sobrecarga pressórica secundária a elevação da pressão arterial é outro fator que influencia o remodelamento, ou seja, o estresse mecânico. A sobrecarga de pressão afeta a matriz extracelular e suas conexões com as células e essa interação pode resultar também em um remodelamento alterado da matriz extracelular (FAN & SCHULZ, 2012). Esse processo pode ser confirmado em ratos alimentados com dieta hiperlipídica que desenvolveram hipertensão e hipertrofia do ventrículo esquerdo (OUWENS *et al.*, 2005; PINHEIRO *et al.*, 2007). De acordo com estes autores, demonstrou-se que a exposição à dieta rica em gorduras resulta em elevações dos níveis pressóricos com impacto importante na massa do ventrículo esquerdo e na atividade do MMP-2. Nestes estudos, maior quantidade de tecido adiposo, alta concentração de citocinas, como leptina, TNF-α, IL-6 e IL-1β, hipertensão arterial e ativação do sistema nervoso simpático (AUKRUST *et al.*, 2004; HILFIKER-KLEINER, LANDMESSER & DREXLER, 2006) podem ter influenciado o remodelamento cardíaco e a atividade da MMP-2.

O treinamento aeróbio e resistido têm sido recomendados como modalidades de exercícios para promover não somente o aumento do gasto energético e da capacidade cardiorespiratória, redução da massa corporal e mudanças da composição corporal, mas também para reduzir o risco cardiometabólico relacionada com a obesidade. Nossos dados corroboram em parte esta afirmação, já que demonstramos que o emprego do treinamento resistido em ratos submetidos ou não à dieta hiperlipídica induziu as mudanças positivas na composição corporal, na pressão arterial e no aumento da atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo. Essas alterações podem ser atribuídas àmaior massa magra induzida pelo treinamento de força e a uma possível elevação da taxa metabólica basal e do gasto energético. É possível que a alta intensidade do treinamento resistido realizado tenha induzido a maior mobilização de ácidos graxos livres e oxidação de gorduras (STOKES, 2003; LEITE *et al.*, 2011).

Os efeitos do treinamento resistido no metabolismo do tecido adiposo e inflamação de baixo-grau são bem estabelecidas e de acordo com alguns autores, esta modalidade diminui a área do tecido adiposo e a adiposidade total em ratos (CORRIVEAU *et al.*, 2008; PIGHON *et al.*, 2009; SPERETTA *et al.*, 2012). Além disso, esta eleva a quantidade de massa magra e promove um efeito anti-inflamatório, demonstrado por diminuição do TNF-α, da proteína C-reativa e da IL-6 (TALEBI-GARAKANI & SAFARZADE, 2012). Recentemente, SPERETTA *et al.* (2012) também demonstraram que o treinamento resistido, agora em ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica, foi capaz de promover todos esses benefícios, com especial redução na expressão do TNF-α no tecido adiposo visceral. Um estudo conduzido por MARQUETI et al. (2012) também demonstrou que o treinamento de salto de alta intensidade na água induziu maior atividade da MMP-2 e também maior conteúdo protéico no ventrículo esquerdo em ratos (MARQUETI *et al.*, 2012). Neste sentido, nosso estudo demonstra que o treinamento resistido induz aumento na atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo nos animais treinados, independente do padrão alimentar proposto, isto é, ração padrão ou hiperlipídica. O estímulo induzido pelo treinamento é importante para manter tanto o *turnover* enzimático quanto a função cardíaca e, pode ser visto como um mecanismo fisiológico que promove adapatação (XU *et al.*, 2008).

Um ponto que reforça os nossos achados foi o maior valor da massa do ventrículo esquerdo no grupo treinado (TR) quando comparado ao sedentário (SED), observado também com maiores valores de massa do ventrículo esquerdo:massa corporal nos grupos treinados (TR e TR-OB) ao compará-los com os grupos sedentários (SED e SED-OB).

A obesidade sarcopênica, definida como a perda relativa da massa magra associada à obesidade (ROUBENOFF, 2004), tem sido relacionada com o aumento do risco cardiovascular, possivelmente pelo acúmulo de gordura, pelo aumento de marcadores inflamatórios e por uma menor quantidade de massa magra e consequente menor eficiência metabólica. Na verdade, esse achado pode estar relacionado pela possível associação entre a massa do ventrículo esquerdo e a quantidade de massa magra. Recentemente, DE SIMONE *et al.* (2012), encontraram que a deficiência de massa magra tem sido associada ao excesso de adiposidade e a valores aumentados da massa ventricular esquerda. Nossos resultados demonstram que a dieta hiperlipídica gerou menor massa magra e maior adiposidade e massa do ventrículo esquerdo no grupo SED-OB. Por outro lado, o treinamento resistido foi capaz de aumentar a massa magra com menor massa adiposa. A relação massa ventrículo esquerdo/massa magra foi significativamente maior no grupo SED-OB em comparação a todos os outros grupos. Entretanto, com a observação de uma melhora nesta relação no grupo TR-OB, é possível que o treinamento resistido possa ter um papel importante em modificar esta variável, com potencial efeito protetor.

Apesar dos resultados positivos mostrados neste estudo, é importante salientar que consideramos existir algumas limitações que poderiam nos ajudar a explicar os mecanismos fisiológicos, celulares e moleculares dos resultados encontrados. Assim, a medida das adipocinas, do perfil lipídico, dos níveis glicêmicos e da insulina plasmática poderiam ajudar na explicação dos mecanismos envolvidos tanto na indução da obesidade quanto no efeito do treinamento resistido. Apesar disso, foi possível a observação de efeitos benéficos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, sugerindo um potencial papel protetor desta modalidade de exercício.

8. RESUMO DOS ACHADOS

- O treinamento resistido melhorou a composição corporal representado por elevação na quantidade de massa magra e reduções na de massa gorda, no percentual de gordura total e troncular.

- O treinamento resistido promoveu redução dos níveis pressóricos nos animais alimentados com dieta hiperlipídica.

- O treinamento resistido promoveu maior expressão na atividade da pró-MMP-2, independente do programa alimentar, e da MMP-2 intermediária no grupo alimentado com dieta hiperlipídica.

- O treinamento resistido demonstrou ser uma ferramenta importante capaz de diminuir depósitos de gordura retroperitoneal, mesentérico e epididimal, independente do programa alimentar proposto.

- O treinamento resistido reduziu a área de adipócitos nos animais alimentados com dieta hiperlipídica e promoveu uma maior expressão de VEGF e PPAR-γ no tecido adiposo retroperitoneal em ambos os grupos treinados.

9. CONCLUSÃO

O treinamento resistido mostrou-se capaz de influenciar de forma benéfica algumas alterações fisiopatológicas relacionadas ao consumo excessivo de alimentos com alto teor lipídico, promovendo mudanças importantes na composição corporal, na atividade da MMP-2 no ventrículo esquerdo e nos níveis pressóricos em animais experimentais. Além disso, esta modalidade de treinamento também foi capaz de promover mudanças com impacto positivo na expressão de PPAR-γ e de VEGF em sítios de gordura retroperitoneal e no conteúdo de adiposidade total. Com base em nossos achados, concluímos que o treinamento resisitido deve ser considerado uma ferramenta de valor contra os efeitos deletérios induzidos pelo excessivo consumo de gorduras e as comorbidades associadas a este hábito.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Face aos resultados obtidos neste estudo podemos sugerir que o modelo animal de treinamento resistido na escada pode possivelmente promover redução no risco cardiovasular associado à obesidade. Já que houve melhora do remodelamento cardíaco, da composição corporal, da pressão arterial, bem como redução da adiposidade. Portanto, essa modalidade de exercício empregada pode ser considerada uma ferramenta não-farmacólogica de valor na obesidade, uma vez que atenua os efeitos deletérios desta doença sobre suas comorbidades. Provavelmente todos esses benefícios foram mediados pela realização do treinamento resistido. Entretanto, os mecanismos envolvidos com estes resultados não foram elucidados com nossos achados e consideramos que estudos adicionais são necessários para esclarecer as vias metabólicas e seus mediadores envolvidos nos benefícios observados.

REFERÊNCIAS

ABEL, E. D.; LITWIN, S. E.; SWEENEY, G. Cardiac remodeling in obesity. Physiol Rev, v. 88, n. 2, p. 389-419, Apr 2008.

AHIMA, R. S. Adipose tissue as an endocrine organ. Obesity, v. 14 Suppl 5, p. 242S-249S, Aug 2006.

AHMED, S. H. et al. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. Circulation, v. 113, n. 17, p. 2089-96, May 2006.

ALI, M. A. et al. Mechanisms of cytosolic targeting of matrix metalloproteinase-2. J Cell Physiol, v. 227, n. 10, p. 3397-404, Oct 2012.

AMATI, F. et al. Separate and combined effects of exercise training and weight loss on exercise efficiency and substrate oxidation. J Appl Physiol, v. 105, n. 3, p. 825-31, Sep 2008.

AUKRUST, P. et al. Inflammation and chronic heart failure-potential therapeutic role of intravenous immunoglobulin. Autoimmun Rev, v. 3, n. 3, p. 221-7, Mar 2004.

BARAUNA, V. G. et al. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. Clin Med Res, v. 5, n. 2, p. 114-20, Jun 2007.

BAYNARD, T. et al. Exercise training effects on inflammatory gene expression in white adipose tissue of young mice. Mediators Inflamm, v. 2012, p. 1-7, 2012

BERGGREN, R.; HULVER M. W.; HOUMARD, J. A. Fat as an endocrine organ: influence of exercise. J Appl Physiol, v. 99, n. 2, p. 757-764, Aug 2005.

BERGMAN, M. R. et al. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction . Am J Physiol Heart Circ Physiol, v. 292, n. 4, p. 1847–1860, Apr 2007.

BRADLEY, R. L. et al. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 295, n. 3, p. E586-94, Sep 2008.

BRAITH, R. W.; STEWART, K. J. Resistance exercise training: its role in the prevention of cardiovascular disease. Circulation, v. 113, n. 22, p. 2642-50, Jun 2006.

BURNEIKO, R. C. et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. Food Chem Toxicol, v. 44, n. 7, p. 1167-72, Jul 2006.

BUTCHER, L. R. et al. Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPARgamma. Med Sci Sports Exerc, v. 40, n. 7, p. 1263-70, Jul 2008.

CHAPADOS, N. et al. Exercise training decreases in vitro stimulated lipolysis in a visceral (mesenteric) but not in the retroperitoneal fat depot of high-fat-fed rats. Br J Nutr, v. 100, n. 3, p. 518-25, Sep 2008.

CHOW, A. K.; CENA, J.; SCHULZ, R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. Br J Pharmacol, v. 152, n. 2, p. 189-205, Sep 2007.

CHURCH, T. S. et al. Effects of different doses of physical activity on cardiorespiratory fitness among sedentary, overweight or obese postmenopausal women with elevated blood pressure: a randomized controlled trial. JAMA, v. 297, n. 19, p. 2081-91, May 2007.

CINTI, S. The adipose organ at a glance. Dis Model Mech, v. 5, n. 5, p. 588-94, Sep 2012.

CINTI, S. The adipose organ. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, v. 73, n. 1, p. 9-15, Jul 2005.

CORRIVEAU, P. et al. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. Maturitas, v. 59, n. 3, p. 259-67, Mar 2008.

DE SALLES, B. F. et al. Effects of resistance training on cytokines. Int J Sports Med, v. 31, n. 7, p. 441-50, Jul 2010.

DE SIMONE, G. et al. Relative fat-free mass deficiency and left ventricular adaptation to obesity: The Strong Heart Study. Int J Cardiol, Oct 2012. (ahead of print)

DERYUGINA, E. I.; QUIGLEY, J. P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. Cancer Metastasis Rev, v. 25, n. 1, p. 9-34, Mar 2006.

DOBRZYN, P. et al. Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 101, n. 17, p. 6409-14, Apr 2004.

DOMINGOS, M. M. et al. Resistance training restores the gene expression of molecules related to fat oxidation and lipogenesis in the liver of ovariectomized rats. Eur J Appl Physiol, v. 112, n. 4, p. 1437-44, Apr 2012.

DONATTO, F. F. et al. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. Cytokine, Nov 2012. (ahead of print)

DONNELLY, J. E. et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. Med Sci Sports Exerc, v. 41, n. 2, p. 459-71, Feb 2009.

DONNELLY, R.; COLLINSON, D. J.; MANNING, G. Hypertension, matrix metalloproteinases and target organ damage. J Hypertens, v. 21, n. 9, p. 1627-30, Sep 2003.

DOUSTAR, Y. et al. Role of four-week resistance exercise in preserving the heart against ischaemia-reperfusion-induced injury. Cardiovasc J Afr, v. 23, n. 8, p. 451-5, Sep 2012.

ELIAS, I. et al. Adipose tissue overexpression of vascular endothelial growth factor protects against diet-induced obesity and insulin resistance. Diabetes, v. 61, n. 7, p. 1801-13, Jul 2012.

ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. Nutrition, v. 20, n. 2, p. 218-24, Feb 2004.

FAN, X.; SCHULZ, R. Matrix metalloproteinase-2: an emerging biomarker for reperfusion injury following percutaneous coronary intervention. Heart, v. 98, n. 1, p. 1-2, Jan 2012.

FOSCHINI, D. et al. Treatment of obese adolescents: the influence of periodization models and ACE genotype. Obesity, v. 18, n. 4, p. 766-772, Apr 2010.

FERREIRA, F. C. et al. Circuit resistance training in sedentary women: body composition and serum cytokine levels. Appl Physiol Nutr Metab, v. 35, n. 2, p.163-71, Apr 2010.

FETT, C. A.; FETT, W. C.; MARCHINI, J. S. Circuit weight training vs jogging in metabolic risk factors of overweight/obese women. Arq Bras Cardiol, v. 93, n. 5, p. 519-25, Nov 2009.

FINUCANE, M. M. et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. Lancet, v. 377, n. 9765, p. 557-67, Feb 2011.

FISHBECK, K. L.; RASMUSSEN, K. M. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, 500 lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rat. J Nutr, v. 501, n. 117, p. 1967–1975, Nov 1987.

FOSCHINI, D. et al. Treatment of obese adolescents: the influence of periodization models and ACE genotype. Obesity, v. 18, n. 4, p. 766-772, Apr 2010.

FOSTER, G. The behavioral approach to treating obesity. Am Heart J, v. 151, n. 3, p. 625-7, Mar 2006.

FOSTER-SCHUBERT, K. E.; CUMMINGS, D. E. Emerging therapeutic strategies for obesity. Endocr Rev, v. 27, n. 7, p. 779-93, Dec 2006.

FRONTINI, A. et al. Thymus uncoupling protein 1 is exclusive to typical brown adipocytes and is not found in thymocytes. J Histochem Cytochem, v. 55, n. 2, p. 183-9, Feb 2007.

FRONTINI, A.; CINTI, S. Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. Cell Metab, v. 11, n. 4, p. 253-6, Apr 7 2010.

GALIC, S.; OAKHILL, J. S.; STEINBERG, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. Mol Cell Endocrinol, v. 316, n. 2, p. 129-39, Mar 25 2010.

GAUTHIER, M. S. et al. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. J Appl Physiol, v. 94, n. 6, p. 2127-34, Jun 2003.

GOLLISCH, K. S. et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 297, n. 2, p. E495-504, Aug 2009.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. Annu Rev Immunol, v. 29, p. 415-45, 2011.

GRUNDY, S. M. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. J Am Coll Cardiol, v. 47, n. 6, p. 1093-100, Mar 2006.

GUERRA, R. L. et al. Effects of 2 or 5 consecutive exercise days on adipocyte area and lipid parameters in Wistar rats. Lipids Health Dis, v. 6, p. 16, Jul 2007.

HANSEN, D. et al. The effects of exercise training on fat-mass loss in obese patients during energy intake restriction. Sports Med, v. 37, n. 1, p. 31-46, 2007.

HATANO, D. et al. Effect of exercise training on the density of endothelial cells in the white adipose tissue of rats. Scand J Med Sci Sports, v. 21, n. 6, p. e115-21, Dec 2011.

HAUSER, C.; BENETTI, M.; REBELO, F. P. V. Estratégias para o emagrecimento. Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum, v. 6, n. 1, p. 72-81, 2004.

HAUSMAN, G. J.; RICHARDSON, R. L. Adipose tissue angiogenesis. J Anim Sci, v. 82, n. 3, p. 925-34, Mar 2004.

HEBER, D. An integrative view of obesity. Am J Clin Nutr, v. 91, n. 1, p. 280S-283S, Jan 2010.

HILFIKER-KLEINER, D.; LANDMESSER, U.; DREXLER, H. Molecular mechanisms in heart failure focus on cardiac hypertrophy, inflammation, angiogenesis, apoptosis. J Am Coll Cardiol, v. 48, p. 56–66, 2006.

HIMAYA, A. et al. Satiety power of dietary fat: a new appraisal. Am J Clin Nutr, v. 65, n. 5, p. 1410-8, May 1997.

HO, S. S. et al. The effect of 12 weeks of aerobic, resistance or combination exercise training on cardiovascular risk factors in the overweight and obese in a randomized trial. BMC Public Health, v. 12, p. 704, Aug 2012.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. Can J Appl Physiol, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.

IRWIN, M. L. et al. Effect of exercise on total and intra-abdominal body fat in postmenopausal women: a randomized controlled trial. JAMA, v. 289, n. 3, p. 323-30, Jan 2003.

JAKICIC, J. M. et al. Effect of exercise duration and intensity on weight loss in overweight, sedentary women: a randomized trial. JAMA, v. 290, n. 10, p. 1323-30, Sep 2003.

JAKICIC, J. M. et al. Effects of intermittent exercise and use of home exercise equipment on adherence, weight loss, and fitness in overweight women: a randomized trial. JAMA, v. 282, n. 16, p. 1554-60, Oct 1999

KANDASAMY, A. D. et al. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. Cardiovasc Res, v. 85, n. 3, p. 413-23, Feb 2010.

KENCHAIAH, S. et al. Obesity and the risk of heart failure. N Engl J Med, v. 347, n. 5, p. 305-13, Aug 2002.

KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A.; FRENCH, D. N. Resistance training for health and performance. Curr Sports Med Rep, v. 1, n. 3, p. 165-71, Jun 2002.

KRETSCHMER, B. D. et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. Life Sci, v. 76, n. 14, p. 1553-73, Feb 2005.

KUKACKA, J. et al. Matrix metalloproteinases and their function in myocardium. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, v. 149, n. 2, p. 225-36, Dec 2005.

LAVOIE, J. M.; GAUTHIER, M. S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. Cell Mol Life Sci, v. 63, n. 12, p. 1393-409, Jun 2006.

LEITE, R. D. et al. Acute effect of resistance training volume on hormonal responses in trained men. J Sports Med Phys Fitness, v. 51, n. 2, p. 322-8, Jun 2011.

LEITE, R. D. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. Appl Physiol Nutr Metab, v. 34, n. 6, p. 1079-86, Dec 2009.

Long-term pharmacotherapy in the management of obesity. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. JAMA, v. 276, n. 23, p. 1907-15, Dec 1996.

MARQUETI, R. C. et al. Nandrolone inhibits MMP-2 in the left ventricle of rats. Int J Sports Med, v. 33, n. 3, p. 181-5, Mar 2012.

MATRISIAN, L. M. The matrix-degrading metalloproteinases. Bioessays, v. 14, n. 7, p. 455-63, Jul 1992.

MATSUNAGA, T. et al. Circulating level of gelatinase activity predicts ventricular remodeling in patients with acute myocardial infarction. Int J Cardiol, v. 105, n. 2, p. 203-8, Nov 2005.

MOHAMMED, F. F.; SMOOKLER, D. S.; KHOKHA, R. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis, v. 62 Suppl 2, p. ii43-7, Nov 2003.

MOKDAD, A. H. et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. JAMA, v. 289, n. 1, p. 76-9, Jan 2003.

MOSTARDA, C. et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. Clinics, v. 67, n. 7, p. 815-20, Jul 2012.

MUJUMDAR, V. S.; SMILEY, L. M.; TYAGI, S. C. Activation of matrix metalloproteinase dilates and decreases cardiac tensile strength. Int J Cardiol, v. 79, n. 2-3, p. 277-86, Jul 2001.

OUWENS, D. M. et al. Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats. Diabetologia, v. 48, n. 6, p. 229-1237, Jun 2005.

PAGE-MCCAW, A.; EWALD, A. J.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. Nat Rev Mol Cell Biol, v. 8, n. 3, p. 221-33, Mar 2007.

PANVELOSKI-COSTA, A. C. et al. Resistive training reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity in obese rats induced by hyperlipidic diet]. Arq Bras Endocrinol Metabol, v. 55, n. 2, p. 155-63, Mar 2011.

PAQUETTE, A. et al. Effects of ovariectomy on PPAR alpha, SREBP-1c, and SCD-1 gene expression in the rat liver. Menopause, v. 15, n. 6, p. 1169-75, Nov-Dec 2008.

PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. Essays Biochem, v. 42, p. 105-17, 2006.

PEREIRA, G. B. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in rat calcaneal tendon. Connect Tissue Res, v. 51, n. 6, p. 459-66, Dec 2010.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. J Appl Physiol, v. 98, n. 4, p. 1154-62, Apr 2005.

PIGHON, A. et al. Substituting food restriction by resistance training prevents liver and body fat regain in ovariectomized rats. Climacteric, v. 12, n. 2, p. 153-64, Apr 2009.

PINHEIRO, A. R. et al. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. Nutr Metab Cardiovasc Dis, v. 17, n. 5, p. 365-75, Jun 2007.

PISCHON, T. et al. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. N Engl J Med, v. 359, n. 20, p. 2105-20, Nov 2008.

PRESTES, J. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. Appl Physiol Nutr Metab, v. 34, n. 4, p. 700-6, Aug 2009.

PUIGSERVER, P.; SPIEGELMAN, B. M. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. Endocr Rev, v. 24, n. 1, p. 78-90, Feb 2003.

REILLY, M. P. et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. Circulation, v. 111, n. 7, p. 932-9, Feb 2005.

ROPELLE, E. R. et al. IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKKbeta and ER stress inhibition. PLoS Biol, v. 8, n. 8, p. 1-20, Aug 2010.

ROSS, R. et al. Exercise-induced reduction in obesity and insulin resistance in women: a randomized controlled trial. Obes Res, v. 12, n. 5, p. 789-98, May 2004.

ROUBENOFF, R. Sarcopenic obesity: the confluence of two epidemics. Obes Res, v. 12, n. 6, p. 887-8, Jun 2004.

RUDERMAN, N. B. et al. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. Acta Physiol Scand, v. 178, n. 4, p. 435-42, Aug 2003.

RUSCHKE, K.; FISHBEIN, L.; DIETRICH, A.; KLOTING, N.; TONJES, A.; OBERBACH, A.; FASSHAUNER, M.; JENKNER, J.; SCHON, M. R.: STUMVOLL, M.; BLUHER, M.; MANTZOROS, C. S. Gene expression of PPAR-gama and PGC-1alfa in human omental and subcutaneous adipose tissues is related to insulin resistance markers and mediates beneficial effects of physical training. Eur J Endocrinol, n. 162, n. 3, p. 515-523, Mar 2010.

SAITO, T. et al. Myocardial alterations and clinical implications associated with recovery of cardiac function in dilated cardiomyopathy with obesity. Int J Cardiol, Oct 2012. (ahead of print)

SCHRAM, K. et al. Regulation of MT1-MMP and MMP-2 by leptin in cardiac fibroblasts involves Rho/ROCK-dependent actin cytoskeletal reorganization and leads to enhanced cell migration. Endocrinology, v. 152, n. 5, p. 2037-47, May 2011.

SCHRAM, K.; SWEENEY, G. Implications of myocardial matrix remodeling by adipokines in obesity-related heart failure. Trends Cardiovasc Med, v. 18, n. 6, p. 199-205, Aug 2008.

SCHRAUWEN, P.; WESTERTERP, K. R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. Br J Nutr, v. 84, n. 4, p. 417-27, Oct 2000.

SENE-FIORESE, M. et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. Obesity (Silver Spring), v. 16, n. 10, p. 2217-22, Oct 2008.

SHIBATA, R. et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms. Nat Med, v. 11, n. 10, p. 1096-103, Oct 2005.

SHIGUEMOTO, G. E. et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. Scand J Med Sci Sports, v. 22, n. 5, p. 607-17, Oct 2012.

SLENTZ, C. A. et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRRIDE AT/RT. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 301, n. 5, p. E1033-9, Nov 2011.

SOUFI, F. G. et al. Role of 12-week resistance training in preserving the heart against ischemia-reperfusion-induced injury. Cardiol J, v. 18, n. 2, p. 140-5, Aug 2011

SPERETTA, G. F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. Clinics (Sao Paulo), v. 67, n. 12, p. 1469-77, Dec 2012.

SPINALE, F. G. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. Physiol Rev, v. 87, n. 4, p. 1285-342, Oct 2007.

STOKES, K. Growth hormone responses to sub-maximal and sprint exercise. Growth Horm IGF Res, v. 13, n. 5, p. 225-38, Oct 2003.

STRASSER, B.; ARVANDI, M.; SIEBERT, U. Resistance training, visceral obesity and inflammatory response: a review of the evidence. Obes Rev, v. 13, n. 7, p. 578-91, Jul 2012.

STRASSER, B.; SIEBERT, U.; SCHOBERSBERGER, W. Resistance training in the treatment of the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of the effect of resistance training on metabolic clustering in patients with abnormal glucose metabolism. Sports Med, v. 40, n. 5, p. 397-415, May, 2010.

STRONGIN, A. Y. et al. Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type IV collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. J BiolChem, v. 270, n. 10, p. 5331-8, Mar1995.

TALEBI-GARAKANI, E.; SAFARZADE, A. Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. Endocrine, Sep 2012. (ahead of print)

THOMPSON, D. et al. Physical activity and exercise in the regulation of human adipose tissue physiology. Physiol Rev, v. 92, n. 1, p. 157-91, Jan 2012.

TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. Nat Rev Immunol, v. 6, n. 10, p. 772-83, Oct 2006.

TINAHONES, F. J. et al. Obesity-associated insulin resistance is correlated to adipose tissue vascular endothelial growth factors and metalloproteinase levels. BMC Physiol, v. 12, p. 4, Apr 2012a.

TINAHONES, F. J. et al. Particular characteristics of the metabolic syndrome in patients with morbid obesity. Endocrinol Nutr, Dec 2012b. (ahead of print)

TOCK, L. et al. Nonalcoholic fatty liver disease decrease in obese adolescents after multidisciplinary therapy. Eur J Gastroenterol Hepatol, v. 18, n. 12, p. 1241-5, Dec 2006.

TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. Biochem Soc Trans, v. 33, n. Pt 5, p. 1078-81, Nov 2005.

VAN WART, H. E.; BIRKEDAL-HANSEN, H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 87, n. 14, p. 5578-82, Jul 1990.

VIEIRA, V. J. et al. Effects of exercise and low-fat diet on adipose tissue inflammation and metabolic complications in obese mice. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 296, n. 5, p. E1164-71, May 2009.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser, v. 894, p. 1-253, 2000.

XU, X. et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. J Mol Cell Cardiol, v. 44, n. 1, p. 114-22, Jan 2008.

YADAV, M.; AKOBENG, A. K.; THOMAS, A. G. Breast-feeding and childhood obesity. J Pediatr Gastroenterol Nutr, v. 30, n. 3, p. 345-6, Mar 2000.

YAKEU, G. et al. Low-intensity exercise enhances expression of markers of alternative activation in circulating leukocytes: roles of PPARgamma and Th2 cytokines. Atherosclerosis, v. 212, n. 2, p. 668-73, Oct 2010.

ZIBADI, S. et al. Leptin's regulation of obesity-induced cardiac extracellular matrix remodeling. Cardiovasc Toxicol, v. 11, n. 4, p. 325-33, Dec 2011.

ANEXO A

ARTICLE IN PRESS

METABOLISM CLINICAL AND EXPERIMENTAL XX (2013) XXX–XXX

Available online at www.sciencedirect.com

Metabolism

www.metabolismjournal.com

Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats

Richard Diego Leite[a,b,*], *Rita de Cássia Marqueti Durigan*[c], *Anderson Diogo de Souza Lino*[d], *Markus Vinicius de Souza Campos*[d,e], *Maria das Graças Souza*[b], *Heloisa Silvestre Selistre-de-Araújo*[f], *Eliete Bouskela*[b], *Luiz Guilherme Kraemer-Aguiar*[b,g]

[a] Departament of Physical Education, Federal University of Maranhão, São Luis, MA, Brazil
[b] Clinical and Experimental Research Laboratory in Vascular Biology (BioVasc), Biomedical Center, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil
[c] Faculty of Ceilândia, University of Brasilia, Brasilia- DF, Brazil
[d] Laboratory of Nutrition and Metabolism Applied to Exercise, Department of Physical Education, Center of Biological and Health Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil
[e] Laboratory of Exercise Physiology, Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil
[f] Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil
[g] Endocrinology, Department of Internal Medicine, Medical Sciences Faculty, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 15 January 2013
Accepted 14 May 2013

Keywords:
Resistance training
Obesity
Left ventricle
Matrix metallopeptidase

ABSTRACT

Objective. The purpose of this study was to evaluate the effect of resistance training (RT) on body composition, systolic and diastolic blood pressures (BP), and activity of muscle MMP-2 in the left ventricle of high-fat fed rats.

Materials/methods. We have evaluated 32 male Wistar rats divided into four experimental groups (n = 8/each) according to diet and exercise status: sedentary (SED; standard diet), sedentary obese (SED-OB; diet: 30% of fat), RT (RT; standard diet) and RT obese (RT-OB; diet: 30% of fat). After weaning (day 21), animals were subjected to the experimental diet according to their groups during 24 weeks. A 12-week strength-training period was used, during which the rats climbed a 1.1-m vertical ladder with weights attached to their tails. Sessions were performed three times/week (Mondays, Wednesdays and Fridays), with 4–9 climbs/session and 8–12 dynamic movements/climb.

Results. RT induced higher muscle MMP-2 activity in the left ventricle in RT and RT-OB groups. Moreover, this study demonstrated that RT promoted lower body and fat masses, fat percentage, systolic and diastolic BPs and higher fat free mass in both trained groups.

Abbreviations: ECM, Extracellular matrix; MMPs, Metalloproteinases; MMP-2, Metalloproteinase-2; BP, Blood pressure; CV, Cardiovascular risk; SED, Sedentary group; SED-OB, Sedentary obese group; RT, Resistance training group; RT-OB, Resistance training obese group; CL, Carrying load; HM:BM, Heart mass to body mass ratio; LV:BM, Left ventricle mass to body mass ratio; LV:FFM, Left ventricle mass to fat free mass; TNF-α, Tumour necrosis factor-alfa.

* *Corresponding author.* Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha sala 104, Maracanã, Zip code: 20550-013, Rio de Janeiro, RJ Brazil.
E-mail address: rdleite@gmail.com (R.D. Leite).

0026-0495/$ – see front matter © 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

Conclusion. RT increased muscle MMP-2 activity in the left ventricle, induced positive changes on body composition and lowered BPs in high-fat diet fed rats, suggesting that it may be a useful tool to prevent alterations induced by high-fat diet consumption.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Obesity per se is able to trigger the onset and/or to induce important changes in the heart and vascular system that could lead to heart failure [1–3]. Cardiac remodeling is a progressive process that induces an adaptative and/or compensatory response of multiple heart structure and function oversustained periods [4]. Several conditions are able to cause cardiac remodeling such as obesity, hypertension, ischemia–reperfusion injury and myocardial infarction [5–7]) and one of the most important changes induced by obesity is left ventricle hypertrophy. Cardiac muscle remodeling by itself could induce all changes mentioned above [8,9].

Remodeling of extracellular matrix (ECM) is one of the components involved on cardiac remodeling and is the result of increased synthesis and deposition of ECM components [10]. Organization and structure of myocardial ECM may be modified by chronic cardiovascular stress or other pathological stimuli, like hypertension and obesity, resulting in altered cardiac size, structure and function [4]. Metalloproteinases (MMPs) are a group of enzymes from zinc-dependent endopeptidase family [11] responsible for the breakdown of ECM components that contributes to normal tissue regulation and remodeling. Actually, they are being considered as direct mediators of ventricular remodeling [12]. In this pathophysiological process, an increased activity of these extracellular proteases is noted [10,13] and several clinical conditions, such as obesity, hypertension, hyperglycaemia, dyslipidemia and also inflammatory and pro-oxidant states are all correlated to it [14].

On spontaneously hypertensive rats, Mujumdar and co-workers [15] reported that cardiac hypertrophy was associated with increased MMP-2 activity leading to decreased cardiac tissue tensile strength and subsequent systolic and diastolic dysfunctions in this pathological condition. On obesity, in view of the above-mentioned evidences, there is growing interest to study interventions for prevention and also treatment of cardiac remodeling, possibly resulting in improved heart function.

In this sense, the exercise has become one of the most important aspects of the non-pharmacological strategy to treat obesity and to prevent weight gain, in addition to its protective effect against obesity comorbidities. In this regard, exercise actually has been considered as a useful tool to promote cardioprotection [16]. Aerobic exercise improves cardiorespiratory fitness, promoting positive changes on fat mass, dyslipidemia, hypertension, insulin resistance, diabetes and many other obesity comorbidities as well [6,7,17,18]. Of note, Pinheiro and co-workers [6] demonstrated, in obese rats, that endurance exercise attenuated blood pressure (BP) levels, cardiac hypertrophy and reduced myocardial fibrosis.

While aerobic exercise has some of the above-mentioned positive effects, there is growing interest on effects of resistance training as a strategy to improve cardiac remodeling. Recently, Marqueti and co-workers [19] have shown that training rats by jumping in the water carrying loads significantly increased MMP-2 activity and protein level in the left ventricle tissue, suggesting an improvement on cardiac remodeling. Doustar and co-workers [20] demonstrated that four weeks of RT induced physiological cardiac hypertrophy without any significant change on its function. Of note, Soufi and co-workers [21] demonstrated a cardioprotective effect against myocardial infarction in rats subjected to resistance exercises during 12 weeks.

Higher fat mass, lower muscle mass and higher BP are generally associated to cardiovascular risk (CV) in obesity. Many studies have already shown some beneficial effects of RT not only on body composition but also on obesity related comorbidities [22–25]. We have hypothesized that RT in high-fat fed rats could positively alter MMP-2 activity on the left ventricle with concomitant benefits on body composition and BP.

2. Materials and methods

2.1. Animals

All experiments were conducted according to the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Research Council, 1998). Thirty-two male 12-week-old Wistar rats (*Rattus novergicus var. albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*) weighing 401.1 ± 9.2 g were used. The animals were kept in collective cages (5 rats per cage) at constant temperature (22 ± 2 °C) subjected to cycles of 12 h light/12 h darkness.

A virgin female (three months old) was caged with a male rat and after mating, it was placed in an individual cage with free access to water and food. To avoid litter effect, within 21 days from birth (day 0), the excess number of pups was removed and only six males per dam were kept to induce higher lactation performance [26]. During lactation (21 days), rat dams received standard laboratory chow (Nuvilab®, Paraná, Brazil) and water ad libitum. The research protocol was previously approved by the State University of Rio de Janeiro (UERJ) Committee on Experimental Animals (CEUA/060/2012).

2.2. Experimental groups

On postnatal day 21, rats were randomized and divided in different litters (2 animals/each litter) into four experimental groups (8 animals per group): sedentary (SED), sedentary obese (SED-OB), resistance training (RT) and RT obese (RT-OB) groups. SED and SED-OB animals were kept in their cages for 12 weeks without any type of exercise. Trained groups (RT and RT-OB) performed 12 weeks of RT and training started at the same time for each group.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

2.3. Diet

Diets were manufactured once a week and stored as pellets at 4 °C in agreement with the American Institute of Nutrition (AIN-93 M) recommendations [27]. Sedentary and RT groups received the standard chow diet (Nuvital, Nuvilab, PR, Brazil), in pellet form, which contained 23% of protein, 71% of carbohydrate, 6% of total fat and 5% of fiber. High-fat diet was composed by standard rat chow (Nuvital, Nuvilab, Colombro PR, Brazil) plus shortening (Primor, SC, Brazil) and condensed milk (Nestlé, São Paulo, SP, Brazil), achieving a composition of 15% of protein, 30% of total fat and 55% of carbohydrate [6]. Caloric densities of high-fat diet and standard chow were respectively, 5.50 and 4.28 kcal/g.

All components of the high-fat diet were grounded and blended. SED-OB and RT-OB groups received high-fat diets during experimental (24 weeks of high-fat diet) and also during resistance training period (the last 12 weeks of experimental period). All animals had free access to their allowed diet and water during the course of the experimental period.

2.4. Resistance training protocol

2.4.1. Familiarization

The rats were adapted to RT protocol by climbing a vertical ladder (1.1 m; 0.18 m, 2-cm grid, 80° incline) with the load apparatus without weight for two non-consecutive days (48 h of rest interval). The load apparatus was fixed to the tail by wrapping its proximal portion with a self-adhesive foam strip. With the load apparatus fixed to the tail, each rat was placed at the bottom of the ladder and familiarized with the climbing procedure. If necessary, a stimulus with tweezers was applied to the animal's tail to initiate movement. When the rats reached the top of the ladder (house chamber), they were allowed to rest for 120 s. This procedure was repeated until they would voluntarily climb the ladder for three consecutive tums without any stimuli.

2.4.2. Determination of maximum carrying load

Two days after the familiarization procedure, each animal was evaluated to establish its maximum carrying load (CL) that consisted of 4–9 ladder climbs with progressive heavier loads. The initial climb was performed with 75% of the animal's body mass and after an additional 30-g weight was added until a load with which the rat could not climb the entire length of the ladder was reached.

The highest load that the animal successfully carried the entire length of the ladder was considered the rat's maximal carrying capacity for that training session. Failure was determined when the animal could not progress up the ladder after three successive stimuli to the tail.

2.4.3. Training period

After above-mentioned procedures, the resistance training period was started and performed three times (Mondays, Wednesdays and Fridays) per week during 12 weeks and consisted of four ladder climbs with 50%, 75%, 90% and 100% of the rat's previously established maximal CL. If a rat reached 100% of its CL, an additional 30-g load was added until a new CL was determined. The rest period between each climb was 120 s and resistance training protocol was adapted from Leite and co-workers [25].

2.4.4. Body mass, fat percentage and food intake

Body mass was measured weekly during the experimental period while food intake was assessed three times per week (Mondays, Wednesdays and Friday). Total fat percentage, assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA; Lunar DEXA 200368 GE instrument; Lunar, Wisconsin, USA) was performed before the last training session after eight hours of fast with animals anaesthetized with ketamine (100 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). Analysis was performed by specific software (Encore 2008; Version 12.20; GE Healthcare).

2.4.5. Blood pressure measurement

Systolic, diastolic and mean BPs were measured in the last training week. Before BP measurement, rats were familiarized to protocol during five days and, to avoid acute and sub acute effects, these parameters were evaluated 48 h after the last training session by using a non-invasive method of the tail-cuff plethysmography in conscious rats (Letica LE 5100, Panlab, Barcelona, Spain).

2.4.6. Tissue preparation

After 12 weeks of RT, animals were sacrificed by decapitation 48 h after the last training session. The heart was removed, washed with saline and weighed. Subsequently, the left ventricle was isolated, weighed, frozen in liquid nitrogen and stored at −80 °C for later analysis. Heart mass to body mass ratio (HM:BM), left ventricle mass to body mass (LV:BM) and to fat free mass (LV:FFM) ratios were determined by dividing heart mass and left ventricle mass by body or free fat mass [28].

2.4.7. Determination of MMP-2 activity in the left ventricle

The frozen left ventricle was washed three times with cold saline and then 25 mg of it incubated in 2 ml of extraction buffer [10 mmol/L cacodylic acid (pH 5.0); 0.15 mol/L NaCl; 1 μmol/L $ZnCl_2$; 20 mmol/L $CaCl_2$; 1.5 mmol/L NaN_3; 0.01% Triton X-100 (v/v)], at 4 °C for 24 h. After this period, the solution was centrifuged for 10 min (13,000 × g at 4 °C) and 20 μg of total protein, measured with BCA Protein Assay Kit (Pierce, Rockford, IL, USA), was loaded and applied in each lane of sodium dodecyl sulfate (SDS)–10% polyacrylamide gels prepared with 1 mg/mL gelatin. After electrophoresis, gels were washed twice for 20 min in 2.5% Triton X-100 to remove SDS. Gels were rinsed and incubated in buffer substrate [50 mmol/L Tris–HCl (pH 8.0); 5 mmol/L $CaCl_2$; 0.02% NaN_3] at 37 °C for 20 h. Gels were stained with Coomassie brilliant blue for 1.5 h and destained with acetic acid:methanol:water (1:4:5) for visualization of activity bands. Gels were photographed with a Canon G6 Power Shot 7.1-megapixel camera. Densitometric quantitative analysis of MMP-2 protein bands seen in the zymography gels were performed using Gene Tools version 3.06 software (Syngene, Cambridge, UK). All procedures were performed as previously described by Marquetti and co-workers [19].

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

ARTICLE IN PRESS

2.5. Statistical analysis

The statistical analysis was performed by Statistica 7.0 software package (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Gaussian distribution was certified by Shapiro–Wilk normality test. All variables presented normal distribution and were reported as means ± standard error of the mean (SEM).

The variables body mass, total fat percentage, heart mass, HM:BM, LM:FFM, BPs and MMP-2 activity were analyzed using two-way analysis of variance (ANOVA; [diet (normal chow vs. high-fat diet) vs. training (sedentary and RT groups)]), followed by Tukey's post hoc tests (Significant Main Effects) for multiple comparisons. Final maximal CLs for trained groups were analyzed using Student t test. Two-tailed P value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Biometrical parameters and final maximal carrying load

SED and RT groups presented lower body mass compared to SED-OB and RT-OB after the experimental period (Table 1; $P < 0.05$). Additionally, the RT-OB group had significantly lower body mass than SED-OB one ($P = 0.006$; Table 1).

High-fat diet induced significantly higher fat percentage and lower amount of fat free mass in SED-OB group compared to SED, RT and RT-OB ones ($P < 0.05$). Of note, RT was able to induce a significant decrease on fat percentage ($P = 0.01$) in the RT-OB group compared to SED-OB. The RT group showed significantly lower amounts of total fat compared to SED, SED-OB and RT-OB ($P < 0.05$; Table 1). On the other hand, the RT group had significantly higher amount of fat free mass compared to other experimental groups ($P < 0.05$), while high-fat diet induced significantly lower fat free mass in SED-OB group compared to SED ($P < 0.013$), RT ($P = 0.0001$) and RT-OB ones ($P < 0.05$).

HM:BM was statistically lower in the SED-OB group compared to SED ($p = 0.001$), RT ($p = 0.001$) and RT-OB ones ($p = 0.001$). LV:FFM was significantly decreased in SED and RT when compared to SED-OB ($P < 0.05$) and RT-OB ($P < 0.05$) groups. Moreover, RT-OB presented significantly lower LV:FFM compared to SED-OB. No statistically significant differences were observed between all experimental groups for heart mass, left ventricle mass or LV:BM. The trained groups, RT and RT-OB, did not differ in final maximal CL (914.3 ± 28.1 vs. 842.1 ± 27.9 g, NS).

3.2. Blood pressure

The RT group presented lower systolic and mean BPs than SED-OB and RT-OB ($p < 0.05$) while no difference was observed between RT and SED groups. Diastolic BP was not different among SED, RT and RT-OB groups. On the counterpart, SED-OB had higher diastolic BP when compared to other groups ($P < 0.05$; Table 2).

3.3. MMP-2 activity

RT groups had higher values of pro-MMP-2 compared to sedentary ones ($P < 0.05$; Fig. 1). We have also noted a difference between SED and SED-OB groups ($P < 0.05$), the former one presenting higher values than the last.

Intermediate MMP-2 activity for the SED-OB group was lower when compared to SED ($P < 0.01$), RT ($P = 0.0001$) and RT-OB ($P < 0.01$) ones. No difference was observed between trained groups for pro- and intermediate MMP-2 activity, while active-MMP-2 did not change significantly in any group (NS Fig. 1).

3.4. Specific effects of RT and high-fat diet (interactions)

The interaction between RT and high-fat diet significantly determined observed results on pro-MMP-2 ($P < 0.01$), mean BP ($p < 0.05$) and HM:BM ratio ($P < 0.05$) with the former stimulus influencing more extensively the results than high-fat diet. Accordingly, the following parameters were influenced by RT: body mass ($P < 0.05$), fat free mass ($P < 0.001$), fat percentage ($P < 0.001$), left ventricle mass ($P < 0.01$), LV:BM ($P < 0.05$), systolic BP ($P < 0.05$), diastolic BP ($P < 0.01$), intermediate-MMP-2 ($P < 0.01$) and active-MMP-2 ($P < 0.05$), while

Table 1 – Differences between body composition and heart biometrical parameters among studied groups.

	SED	SED-OB	RT	RT-OB
Body mass (g)	453.95 ± 14.06	566.14 ± 22.16*	431.51 ± 16.83†	500.32 ± 16.36*,†,‡
Fat free mass (g)	260.80 ± 10.97	217.60 ± 8.63*	288.53 ± 10.40*,†	247.85 ± 9.67†,‡
Fat (%)	40.41 ± 1.61	55.71 ± 1.43*	30.70 ± 1.62*,†	48.13 ± 1.82*,†,‡
Heart mass (g)	1.35 ± 0.04	1.34 ± 0.03	1.28 ± 0.05	1.39 ± 0.05
LV mass (g)	0.49 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.53 ± 0.03	0.62 ± 0.03
HM:BM (mg/g)	3.00 ± 0.10	2.37 ± 0.05*	2.97 ± 0.05†	2.81 ± 0.15†
LV:BM (mg/g)	1.10 ± 0.04	1.10 ± 0.05	1.25 ± 0.11	1.26 ± 0.08
LV:FFM (g/g)	0.0019 ± 0.0001	0.0028 ± 0.0001*	0.0018 ± 0.0001†	0.0025 ± 0.0001†,‡

Values are presented as means ± SEM; $P < 0.05$.

SED = Sedentary group; SED-OB = Sedentary Obese group; RT = RT group; RT-OB = RT Obese group; Fat = percent of total fat; LV mass = Left Ventricle mass; HM:BM = Heart Mass: Body Mass; LV:BM = Left Ventricle mass: Body Mass; LV:FFM = Left Ventricle mass: Fat Free Mass.

* Compared to SED.

† Compared to Sed-OB.

‡ Compared to RT.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

Table 2 – Blood pressure results.

	SED	SED-OB	RT	RT-OB
Systolic BP (mmHg)	121.10 ± 3.99	146.36 ± 4.36*	117.60 ± 2,26†	127.52 ± 2.51†,‡
Diastolic BP (mmHg)	94.13 ± 2.91	116.45 ± 3.28*	90.38 ± 1.48†	96.25 ± 2.93†
Mean BP	105.40 ± 2.00	121.61 ± 2.06*	99.13 ± 0.95†	106.3 ± 2.43†

Values are presented as means ± SEM; $P < 0.05$.
SED = Sedentary group; SED-OB = Sedentary Obese group; RT = Resistance training group; RT-OB = RT Obese group; BP = blood pressure.
* Compared to SED.
† Compared to Sed-OB.
‡ Compared to RT.

high-fat diet influenced body mass ($P < 0.001$), fat free mass ($P < 0.01$), fat percentage ($P < 0.01$), LV:FFM ($P < 0.001$), systolic ($P < 0.001$) and diastolic BPs ($P < 0.05$) and also intermediate-MMP-2 activity ($P < 0.001$).

4. Discussion

The present study investigated whether resistance training performed during 12 weeks on high-fat fed rats could alter MMP-2 activity at the level of left ventricle muscle and our results have demonstrated that resistance training induced an increased activity on pro and intermediate-MMP-2 while no statistical difference was observed for active-MMP-2 between experimental groups. Since activation of MMP involves many steps and all forms are important to take the ultimate enzymatic function, this finding points to a possible improvement on cardiac remodeling response in animals subjected to resistance training program. Moreover, our study also showed that resistance training concomitantly promoted lower body and fat masses, fat percentage, systolic and diastolic BPs and higher fat free mass as well, independently of diet. All these findings confirmed our initial hypothesis, in which resistance training could modulate MMP-2 activity on the left ventricle associated to improvement on body composition and BP in high-fat fed rats.

The clinical relevance of our findings is based on the fact that excessive adiposity in response to a positive energy balance has been considered an important risk factor for the appearance of obesity-associated comorbidities [29], resulting in an increase in cardiovascular diseases and heart failure [8]. Several scientific evidences have shown that high-fat diet consumption was associated to increased amount of total adiposity and ectopic fat depots, hypertension, altered lipid and inflammatory profiles, impaired glucose homeostasis and marked cardiac derangements in rats [6,17,22,30,31]. In this sense, previous data demonstrated altered degradation of ECM by MMPs, especially MMP-2, which was correlated to the development of cardiovascular disorders including atherosclerosis, congestive heart failure, myocardial infarction, cardiomyopathy and left ventricle hypertrophy all of them related to obesity [32].

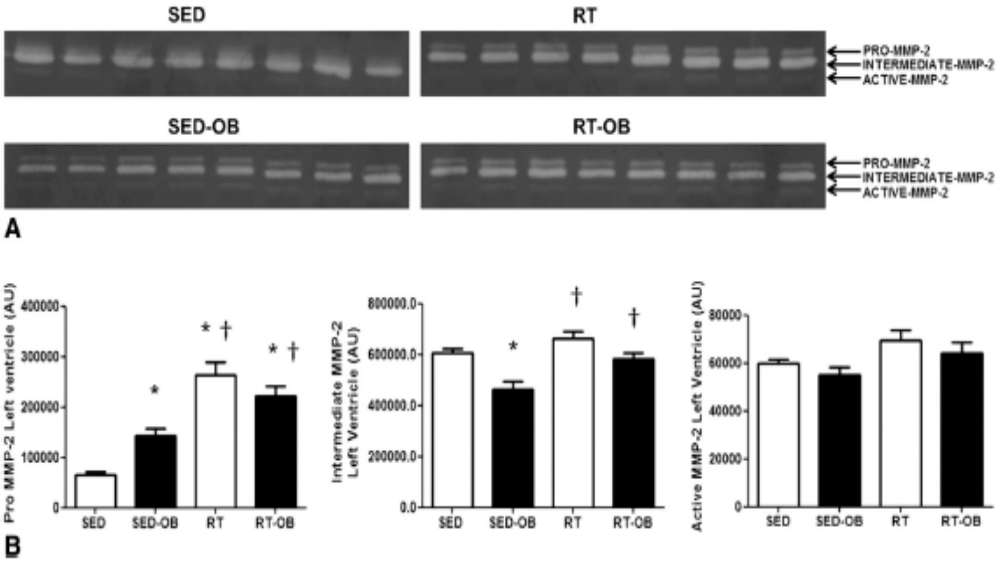


Fig. 1 – Effects of RT and high-fat diet on pro (latent), intermediate and active MMP-2 bands on the left ventricle. Data were expressed as arbitrary units (AU), as mean ± SEM ($P < 0.05$). *, compared to SED; †, compared to SED-OB and ‡, compared to RT.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

Obesity-induced cardiac ECM remodeling contributes to cardiac functional and structural abnormalities, resulting in changes in cardiomyocytes and extracellular composition [33]. Higher levels of BP lead to pressure overload that could be viewed as mechanical stress. Pressure overload affects ECM and cell–ECM connections and these interactions may also cause an altered ECM remodeling [34]. It was already confirmed that rats fed with high-fat diets develop hypertension and left ventricle hypertrophy as consequence of obesity, induced by positive energy balance [6,35]. In agreement with these previous studies, our own has shown that long-term exposure to high-fat diet led to higher systolic and diastolic BPs impacting left ventricle mass and MMP-2 activity. Larger tissue mass, higher cytokines levels such as leptin, tumour necrosis factor-alfa (TNF-α), interleukin-6 and interleukin-1β are associated to the presence of coexisting hypertension and activation of sympathetic nervous system [36,37] which were all related to myocardial remodeling and MMP-2 activity. These factors might have influenced the results.

Endurance training, concurrent training (defined by association between endurance and resistance trainings) and resistance training have been recommended as exercise modalities to promote not only increases in energy expenditure, reductions in body weight, changes on body composition, improvements on cardiorespiratory fitness, but also reductions of obesity-related cardiometabolic risk. Our study has also showed that resistance training induced positive changes on body composition, BP and higher MMP-2 activity in the left ventricle in lean and obese rats. These alterations may be attributed to higher skeletal muscle mass that may result in higher basal metabolic rate and energy expenditure. We may speculate as well that high intensity resistance training possibly induced free fatty acids mobilization and oxidation during and after exercise due to increased hormone sensitive lipase activity, as a result of higher catecholamine levels, thyroid and others hormones, such as cortisol and growth hormone release [38,39]. Therefore, hypothetically and based on our results, long-term high intensity RT may represent a tool for improvement of body composition, finally resulting in a lower pro-inflammatory profile.

Effects of resistance training on adipose metabolism and low-grade inflammation are being established. Some authors have shown that resistance training was effective to decrease adipose tissue area and total adiposity in rats [22,25,40,41], to increase fat free mass [42] and also to cause an anti-inflammatory effect, expressed by decreased levels of TNF-α, C-reactive protein and interleukin-6 [43]. Recently, Speretta and co-workers [22] also noted that RT was able to promote all these benefits with special focus on decreased TNF-α expression on visceral adipose tissue in high-fat diet rats. Previously, we have demonstrated that high intensity jump training on water induced higher MMP-2 activity and protein content in the left ventricle in rats [19]. In the same way, the present study demonstrated that resistance training also induced increases in MMP-2 activity in the left ventricle both in high-fat fed and control rats. These stimuli induced by exercise training are important to maintain enzymatic turnover and normal cardiac function and could be viewed as a physiological mechanism that promotes adaptation [44].

Another point that corroborates our findings was noted by higher values of left ventricle weight on RT group when compared to the sedentary one (SED) which were also corroborated by the observation of higher values of LV:BM ratio in trained groups (RT and RT-OB) compared to sedentary ones (SED and SED-OB).

Sarcopenic obesity, defined as a relative loss of free fat mass associated to obesity [45] has been associated to increased risk of morbidity and higher cardiovascular risk [28], possibly occurring due to fat accumulation, increase in inflammatory markers and also diminished amounts of muscle mass. Actually, it is recognized that left ventricular mass is strongly influenced by fat free mass on skeletal muscle [28]. Recently, Simone and co-workers [28] found that relative fat free mass deficiency was associated to higher left ventricle mass and excessive adiposity. Herein, we have observed that high-fat diet induced significantly lower fat free mass and higher amounts of fat mass in SED-OB group. Surprisingly, there was no statistical difference for left ventricle mass between all experimental groups. However, we have observed a trend in LV mass suggesting higher LV mass in the obese groups (SED-OB and RT-OB) compared with SED and RT group. On the other hand, RT induced an increase on fat free mass with lower fat mass while the LV:FFM ratio was significantly higher in SED-OB than in SED, RT and RT-OB groups. Therefore, there must be a role of RT inducing an improvement in this ratio in RT-OB group. In this sense, there is a great interest to understand the interactions among all systemic alterations induced by obesity, MMP-2 and cardiac remodeling in rats and humans. Taken together, these results suggest that resistance training provides a potential strategy to attenuate the impact of obesity on cardiovascular system and support an important functional role for MMPs in the regulation of cardiac remodeling and turnover.

Considering our results, we may suggest that resistance training tested in ladder may improve cardiovascular risk associated to obesity, improving cardiac remodeling secondary to higher MMP-2 activity on the left ventricle, lower levels of systolic and diastolic BPs, better body composition and lower amounts of adiposity. Limitations of our results warrant mention, and the lack of testing inflammatory markers such as leptin, TNF-α and interleukin-6 could have suggested some mechanistic insights to our results. Additionally, the metabolic profile should add information, if tested. In conclusion, we presented evidence suggesting that RT was associated to better MMP-2 activity, systolic and diastolic BPs and body composition in high-fat fed rats. Probably, all these benefits were mediated by resistance training but further studies are necessary to test the exact mechanisms involved on these findings.

Author contributions

Richard Diego Leite, Rita de Cássia Marqueti Durigan, Anderson Diogo de Souza Lino, Markus Vinicius de Souza Campos, Maria das Graças Souza Heloisa Silvestre Selistre-de-Araújo, Eliete Bouskela, Luiz Guilherme Kraemer-Aguiar contributed to the design and conduction of the study, collection, analysis and interpretation of data, and manuscript writing.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

Conflict of interests

There are no conflict of interest and no financial disclosure.

REFERENCES

[1] Leite RD, Kraemer-Aguiar LG, Boa BC, et al. Muscle endothelial-dependent microvascular dysfunction in adulthood due to early postnatal overnutrition. Microvasc Res 2012;84:94–8.
[2] Hopps E, Caimi G. Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome. Eur J Intern Med 2012;23:99–104.
[3] Schram K, Sweeney G. Implications of myocardial matrix remodeling by adipokines in obesity-related heart failure. Trends Cardiovasc Med 2008;18:199–205.
[4] Spinale FG. Myocardial matrix remodeling and the matrix metaloproteinases: influence on cardiac form and function. Physiol Rev 2007;87:1285–342.
[5] Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, Shah AM. Role of oxidative stress in cardiac remodelling after myocardial infarction. Heart Lung Circ 2004;13:1322–2138.
[6] Pinheiro AR, Cunha AR, Aguila MB, et al. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2007;17:365–75.
[7] Mostarda C, Moraes-Silva IC, Salemi VM, et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. Clinics 2012;67:815–20.
[8] Saito T, Asai K, Sato S, et al. Myocardial alterations and clinical implications associated with recovery of cardiac function in dilated cardiomyopathy with obesity. Int J Cardiol 2012 (ahead of print).
[9] Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, de Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. Clin Med Res 2007;5:114–20.
[10] Kukacka J, Prusa R, Kotaska K, Pelouch V. Matrix metallo-proteinases and their function in myocardium. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2005;149:225–36.
[11] Ali MAM, Fan X, Schulz R. Cardiac sarcomeric proteins: novel intracellular targets of matrix metalloproteinases in heart disease. Trends Cardiovasc Med 2011;21:112–8.
[12] Bergman MR, Teerlink JR, Mahimkar R, et al. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007;292:1847–60.
[13] Zitka O, Kukacka J, Krizkova S, et al. Matrix metalloprotei-nases. Curr Med Chem 2010;17:3751–68.
[14] Berg G, Miksztowicz V, Schereier L. Metalloproteinases in metabolic syndrome. Clin Chim Acta 2011;412:1731–9.
[15] Mujumdar VS, Smiley LM, Tyagi SC. Activation of matrix metalloproteinases dilates and decreases cardiac tensile strength. Int J Cardiol 2001;79:277–86.
[16] Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. Free Radic Biol Med 2008;44:193–201.
[17] Duarte FO, Sene-Fiorese M, Manzoni MS, et al. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. Nutrition 2008;24:177–86.
[18] Bradley RL, Jeon JY, Liu FF, Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in dietinduced obese mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008;29:586–94.
[19] Marqueti RC, Micocci KC, Leite RD, Selistre-de-Araujo HS. Nandrolone inhibits MMP-2 in the left ventricle of rats. Int J Sports Med 2012;33:181–5.
[20] Doustar Y, Soufi FG, Jafary A, et al. Role of four week in preserving the heart against ischaemia–reperfusion-induced injury. Cardiovasc J Afr 2012;23:451–5.
[21] Soufi FG, Saber MM, Ghiassie R, Alipour M. Role of 12-week resistance training in preserving the heart against ischemia–reperfusion induced injury. Cardiol J 2011;18:140–5.
[22] Speretta GFF, Rosante MC, Duarte FO, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. Clinics 2012 (ahead of print).
[23] Foschini D, Araújo RC, Bacurau RF, et al. Treatment of obese adolescents: the influence of periodization models and ACE genotype. Obesity 2010;18:766–72.
[24] Ferreira FC, de Medeiros AI, Nicioli C, et al. Circuit resistance training in sedentary women: body composition and serum cytokine levels. Appl Physiol Nutr Metab 2010;35:163–71.
[25] Leite RD, Prestes J, Bernardes CF, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. Appl Physiol Nutr Metab 2009;34:1079–86.
[26] Fishbeck KL, Rasmussen KM. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rat. J Nutr 1987;117:1967–75.
[27] Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. J Nutr 1997;127:838–41.
[28] De Simone G, Pasanisi F, Ferrara AI, et al. Relative fat-free mass deficiency and left ventricular adaptation to obesity: the Strong Heart Study. Int J Cardiol 2012 (ahead of print).
[29] Tinahones FJ, Garrido-Sánchez L, Murri M, García-Fuentes E, Cardona F. Particular characteristics of the metabolic syndrome in patients with morbid obesity. Endocrinol Nutr 2012 (ahead of print).
[30] Sene-Fiorese M, Duarte FO, Scarmagnani FR, et al. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. Obesity 2008;16:2217–22.
[31] Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009;297:495–504.
[32] Ahmed SH, Clark LL, Pennington WR, et al. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. Circulation 2006;113:2089–96.
[33] Zibadi S, Cordova F, Slack EH, et al. Leptin's regulation of obesity-induced cardiac extracellular matrix remodeling. Cardiovasc Toxicol 2011;11:325–33.
[34] Fan X, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2: an emerging biomarker for reperfusion injury following percutaneous coronary intervention. Heart 2012;98:1–2.
[35] Ouwens DM, Boer C, Fodor M, et al. Cardiac dysfunction induced by high-fat diet is associated with altered myocardial insulin signalling in rats. Diabetologia 2005;48:1229–1237.
[36] Aukrust P, Yndestad A, Damas JK, Gullestad L. Inflammation and chronic heart failure: potential therapeutic role of intravenous immunoglobulin. Autoimmun Rev 2004;3:221–7.
[37] Hilfiker-Kleiner D, Landmesser U, Drexler H. Molecular mechanisms in heart failure focus on cardiac hypertrophy, inflammation, angiogenesis, apoptosis. J Am Coll Cardiol 2006;48:56–66.
[38] Stokes K. Growth hormone responses to sub-maximal and sprint exercise. Growth Horm IGF Res 2003;13:225–38.
[39] Leite RD, Prestes J, Rosa C, et al. Acute effect of resistance training volume on hormonal responses in trained men. J Sports Med Phys Fitness 2011;51:322–8.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

ARTICLE IN PRESS

[40] Pighon A, Paquette A, Barsalani R, et al. Substituting food restriction by resistance training prevents liver and body fat regain in ovariectomized rats. Climacteric 2009;12:153–64.
[41] Corriveau P, Paquette A, Brochu M, et al. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. Maturitas 2008;59:259–67.
[42] Homberger TAJR, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. Can J Appl Physiol 2004;29:16–31.
[43] Talebi-Garakani E, Safarzade A. Resistance training decreases serum Inflamatory markers in diabetic rats. Endocrine 2012 (ahead of Print).
[44] Xu X, Wan W, Powers AS, et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. J Mol Cell Cardiol 2008;44:114–22.
[45] Roubenoff R. Sarcopenic obesity: the confluence of two epidemics. Obes Res 2004;12:887–8.

Please cite this article as: Leite RD, et al, Resistance Training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of ..., Metabolism (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.009

ANEXO B

Microvascular Research 84 (2012) 94–98

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Microvascular Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymvre

Muscle endothelial-dependent microvascular dysfunction in adulthood due to early postnatal overnutrition

Richard Diego Leite [a,b], Luiz Guilherme Kraemer-Aguiar [a,*], Beatriz Costa da Silva Boa [a,b], Fatima Z.G.A. Cyrino [a], Pierre Nivoit [a], Eliete Bouskela [a]

[a] Clinical and Experimental Research Laboratory in Vascular Biology (BioVasc); Biomedical Center, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, Brazil
[b] Graduate Program in Biosciences, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 22 March 2012
Available online 29 March 2012

ABSTRACT

The aims of our study were to investigate effects of postnatal overnutrition, obtained by restricting the number of pups per litter, on microcirculatory reactivity, fat depots, its total percentage and lipid profile. Microvascular reactivity was evaluated in the cremaster muscle of 24 hamsters divided into four groups, with 6 animals in each one: normal (NL) and restricted (RL) litter groups, both at 6th and 21st weeks of age. The NL group had 8–9 pups and the RL 3 pups per litter and to avoid the litter effect, only one animal was used per litter. The results have shown that the RL group had higher velocity of weight, body mass and fat gain compared to the NL one at weeks 6 and 21. Significant differences were also observed on urogenital fat depot, total cholesterol and low density lipoprotein between groups. At the lowest concentration of Ach, the RL group showed smaller arteriolar dilatation at the 21st than at the 6th week [5(3–13) vs 19(8–40)%, $p<0.01$] while the NL one did not show any difference within the group. The highest concentration of Ach at the 21th week pointed to endothelial-dependent microvascular dysfunction in RL compared to NL [3(8–26) vs. 13(8–26)%, $p<0.05$]. Endothelial-independent microvascular reactivity was similar between groups. Our data suggest that postnatal overnutrition is associated to muscle endothelial-dependent microvascular dysfunction, greater body mass and total percentage of fat and impaired the lipid profile. In conclusion, the imprinting promoted by this experimental model of obesity was able to influence microvascular reactivity later in life.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Animal growth and development is a complex and dynamic process including genetic and/or environmental factor interactions. During early postnatal life stimulus and/or disturbances in any factor of development can induce important physiological adaptations in key tissues or organ system (Lucas et al., 2001; Warner and Ozanne, 2010).

Since 1957 it is known that animals raised in small litters become obese (Kennedy, 1957). At this period of life, overnutrition is an important modulator of metabolic and cardiovascular disturbances and represents a risk factor for adult obesity (Rodrigues et al., 2009, 2011). Altered adipose tissue storage and circuits in the hypothalamus able to control food intake and energy balance in adulthood may be the culprit of accelerated body weight gain (Faust et al., 1980; Plagemann et al., 1999; Rodrigues et al., 2009) .

Metabolic syndrome (MS) is referred as a cluster of cardiovascular risk factors in which abdominal obesity, impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia, raised blood pressure, pro-inflammatory and pro-thrombotic factors are all players and could altogether or separately elicit endothelial dysfunction. Increased production of free fatty acids, angiotensinogen, leptin, resistin and inflammatory mediators such as TNF-α (tumoral necrosis factor-alfa) and IL-6 (interleukin-6) among others can also be related to the pathophysiological process (Jonk et al., 2007).

In view of the aforementioned concerns, our hypothesis is that overnutrition during the weaning period may alter muscle microvascular reactivity and fat depots imprinting its impairments later in life. Thus, the aim of this study was to investigate the effect of postnatal overnutrition on muscle microvascular reactivity in an *in vivo* experimental model.

Methods

Experimental animals

Primiparous timed-pregnant golden hamsters (*Mesocricetus auratus*, Botucatu, São Paulo, SP, Brazil) aged between 3 and 4 months were followed during all pregnancy (~2 weeks) housed individually in plastic cages under controlled lighting (12 h light: 12 h dark cycle) at constant temperature (21.5 ± 0.5 °C) with light from 06:00 to 18:00. The animals

* Corresponding author at: Rua São Francisco Xavier, 524, zip code: 20550–013, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
E-mail address: gkraemer@ig.com.br (L.G. Kraemer-Aguiar).

0026-2862/$ – see front matter © 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi: 10.1016/j.mvr.2012.03.009

received commercial rodent chow (Labina-Paulínia, São Paulo-Brazil) and water *ad libitum*. Food intake was not monitored during the experimental period. Females were paired with males during 10 days after which males were removed. After parturition (day 0 of lactation), pups were counted and followed for 4 days. On day 4th, animals were divided into 2 different groups: normal – (NL, 8–9 pups) and restricted – (RL, 3 pups) litter size. On RL it was allowed only three male pups per litter, while on NL group, litter could not exceed 8–9 pups (including males and females), and the exceeding ones were sacrificed. For the following 17 days nurture was allowed for both groups until day 21, when female pups of the NL groups were sacrificed.

To avoid the litter effect, only one animal per litter was used. Twenty-four male hamsters were divided into four experimental groups, with 6 animals in each one: normal (NL) and restricted (RL) litter groups both at 6th and 21st weeks of age.

The protocol was approved by the Ethical Committee of the State University of Rio de Janeiro. Experiments were performed according to *Guide for Care and Use of Laboratory Animals* published by the US National Institute of Health (NIH publication No. 85–23, revised in 1996).

Body weight and fat percentage

Weights of individual pups were measured weekly until day 30 and after that at day 60 after parturition. At weeks 6 and 21 body weight and fat percentage were measured by dual energy X-ray absorptiometry GE Lunar Prodigy Advanced System (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA).

Cremaster muscle analysis

Tissue preparation

Microcirculatory experiments were performed using the cremaster muscle preparation Anesthesia was induced by an intraperitoneal injection of 0.1–0.2 ml of sodium pentobarbital (Pentobarbital sodique, 60 mg/ml, Sanofi Santé Animale, Paris, France) and maintained with α-chloralose [100 mg/kg body weight (Sigma Chemicals, St. Louis MO, USA)]. Animals were placed on a heating pad, controlled by a rectal thermistor and their body temperature was maintained at 37.5 °C (LTB 750 Thermostat System, Uppsala, Sweden).

For the experiments, the cremaster muscle was dissected according to Baez (Baez, 1973) and mounted in an experimental chamber continuously superfused at a rate of 4 ml/min by a HEPES-supported HCO^-_3-buffered saline solution [composition in mM: NaCl 110.0, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.0, $MgSO_4$ 1.2, $NaHCO_3$ 18.0, N-2-hydroxyethylpiperazine-N′-2ethanesulfonic acid (HEPES) 15.39 and HEPES Na^+-salt 14.61] bubbled with 5% CO_2–95% N_2. The pH was set at 7.4 and the temperature maintained at 37.5 °C.

The preparation was placed under an intravital microscope (Leica DMLFS, Germany, optical magnification ×600, NA 0.65) coupled to a closed-circuit TV system and allowed to rest for 30 min before measurements were taken. Images were recorded in sVHS and analyzed after the experiment.

The anterior aspect of the scrotum was gently shaved with electric clippers and the hamsters were then placed ventral side up onto the viewing stage. The initial incision was made in the skin and fascia above the scrotum, over the ventral aspect of the right scrotum, extending this incision along the top of the inguinal fold and down to the distal end of the scrotum. After separating the connective tissue from the cremaster muscle, a transversal incision was made at the superior portion of it; testicule and epididymis were then extracted. The open cremaster lay flat on the glass stage with four hooks (bent six gauge neddles) attached to threads and taped down, placed along the edges of the tissue (two on each side) to hold it down onto the glass stage. The cremaster muscle is stable in terms of microvessel diameter, spontaneous arteriolar vasomotion, arteriolar blood flow and functional capillary density for, at least, 4 h of microscopic observation (data not shown).

Intravital microscopy

In each preparation, three arterioles were selected taking into account the possibility to return exactly to the same site (presence of fat cells, bifurcations, etc.) for consecutive measurements. Experiments were performed by taking 3 min videotape recordings of selected microvessels in initial control conditions (before the addition of any drug) and subsequently 10–15 min after each experimental intervention.

Microvascular reactivity

Three arterioles were studied in each cremaster muscle preparation. Mean internal microvessel diameter was determined using an Image Shearing device (Vista Eletronics, Model 908, San Diego, CA, USA), at baseline and after topical application, 10 min each, with a syringe infusion pump 22 (model 55–2222, Harvard Apparatus, Massachusetts, USA), of three concentrations of freshly prepared acetylcholine (Ach) (10^{-8}, 10^{-6} and 10^{-4} M; Sigma Chemicals, St. Louis, MA, USA) and sodium nitroprusside (10^{-8}, 10^{-6} and 10^{-4} M; Sigma Chemicals, St. Louis, MA, USA) in a cumulative dose–response curve.

Adipose tissue collection

Urogenital, mesenteric and retroperitoneal fat depots were collected, weighed and stored at −80 °C.

Analytic methods

Immediately after the sacrifice, blood was collected, centrifuged [3000 r min^{-1} (1157 ×*g*) for 10 min at 4 °C], and stored at −80 °C until analyses of total triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and high-density lipoprotein (HDL). TG, TC, and HDL concentrations were determined using a Biosystem kit commercially available with sensitivity of 0.7 mmol l^{-1}, 0.14 mmol l^{-1}, and 0.5 mmol l^{-1}, respectively. Low-density lipoprotein (LDL) = TC − HDL − (TGL × 0.2) and very low density lipoprotein (VLDL) = TGL/5) were calculated by Friedewald's equation (Friedewald et al., 1972).

Statistical analysis

The statistical analysis was performed initially by Kolmogorov–Smirnov normality and homoscedasticity tests (Bartlett criterion). Body mass, fat percentage, fat depots and lipid profile presented normal distribution and are reported as means ± standard error of the mean. Microvascular reactivity did not show normal distribution and is reported as median [1st–3rd quartiles]. Variables with normal distribution were analyzed using Student *t* test to compare differences between groups at 6th and 21st weeks. The Mann–Whitney test was used to analyze microvascular reactivity between groups at 6th and 21st weeks. All data were analyzed by Prism 5.0 (Graphpad Inc., San Diego, CA, USA) and $p \leq 0.05$ was considered significant.

Results

Overnutrition during early postnatal life elicited endothelial-dependent muscle microvascular dysfunction associated to accelerated weight gain and greater body mass in adulthood. Microvascular reactivity was significantly different between groups, weeks of life, doses and drugs employed. Endothelial-dependent microvascular reactivity is shown in Fig. 1. Main findings of our work were noted

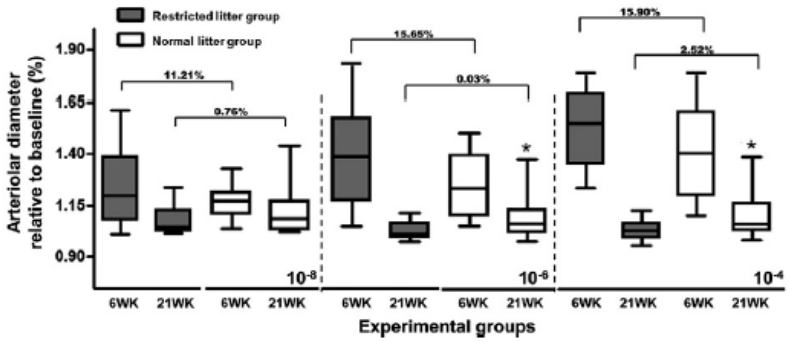


Fig. 1. Microvascular reactivity results after topical application of acetylcholine in different concentrations (10^{-8}; 10^{-6} and 10^{-4} M). Percentual values represent quantitative difference between NL versus RL groups. 6 wk = 6 weeks; 21 wk = 21 weeks; *significant difference from restricted litter group ($p<0.05$).

using 10^{-6} M and 10^{-4} M of Ach. With the 10^{-6} M concentration, it was shown that RL had significantly lower vasodilatation at 21st week compared to NL group [11.5(6.88–19.78) vs 15.82(6.58–18.88) %, $p<0.01$], respectively. With the highest concentration of Ach, at the 21st week, we have detected endothelial-dependent microvascular dysfunction in the RL group when compared to the NL one [17(9.10–25.32) vs. 20.14(11.9–24.43)%, $p<0.05$ (Fig. 1). Endothelial-independent microvascular reactivity was similar between groups (Fig. 2).

Overnutrition during early postnatal period resulted not only in accelerated weight gain but also in greater body mass at adulthood. Accelerated weight gain was noted on RL from 14 days on, where we have observed that this group presented significantly greater body mass compared to NL, specifically in the 14th ($p<0.05$), 21st ($p<0.001$), 30th($p<0.001$) and 60th days ($p<0.05$ — Table 1).

Table 2 also depicts body composition and fat distribution. It should be noted that the RL group presented significantly greater body mass compared to NL one at 6th (120.25 ± 4.70 vs 106.82 ± 5.12; $p<0.05$) and 21st weeks (153.62 ± 9.36 vs 135.93 ± 6.08; $p<0.05$), respectively. Similar results were observed in animals subjected to overnutrition. The RL group presented significantly greater fat percentage compared to the NL one in both age periods (Table 2).

Urogenital fat depot at 21st week was significantly greater in the RL group (4.04 ± 0.27) compared to NL (3.22 ± 0.65). There was no statistical difference between groups at the 6th week. Similar results were observed for mesenteric and retroperitoneal fat depots at 6th and 21st weeks (Table 2).

The RL group showed higher TC, LDL, VLDL and TGL levels than the NL one as shown in Table 3, but there were statistical differences only on TC and LDL levels between groups. The RL group presented significantly higher serum TC compared to NL one at 6th week (185 ± 0.12 vs 1.65 ± 0.11), respectively. Similar results were observed at 6th week for LDL level between RL (0.46 ± 0.11) and NL (0.27 ± 0.15) groups (Table 3).

Discussion

Our main finding in an *in vivo* experimental model of postnatal overnutrition was the occurrence of muscle microvascular endothelial-dependent dysfunction noticed solely at week 21th. At the 6th week we did not detect any difference on the microcirculation between the groups investigated. This finding points to a possible imprinting mechanism on muscle microcirculation due to early postnatal overnutrition. Our initial hypothesis was partially confirmed, overnutrition during early periods of life was able to impair endothelial-dependent microvascular reactivity, associated to increased weight gain, greater body fat and mass, and altered the lipid profile. Urogenital fat depots presented greater values for RL group at 21th week when compared to NL one. Moreover, we could notice a trend towards greater mesenteric and retroperitoneal fat depots in the RL group.

Previous data in the literature have demonstrated that overfeeding during lactation was associated to greater weight gain occurring as early as the 7th day of life, which remained later in life (Dantas et al., 2010; Rodrigues et al., 2009). In addition, Plagemann and coworkers (Plagemann, 2006) demonstrated that reduction in litter size induced hiperinsulinemia and hyperleptinemia, besides an increased growth rate not only in early life but also in the post weaning period.

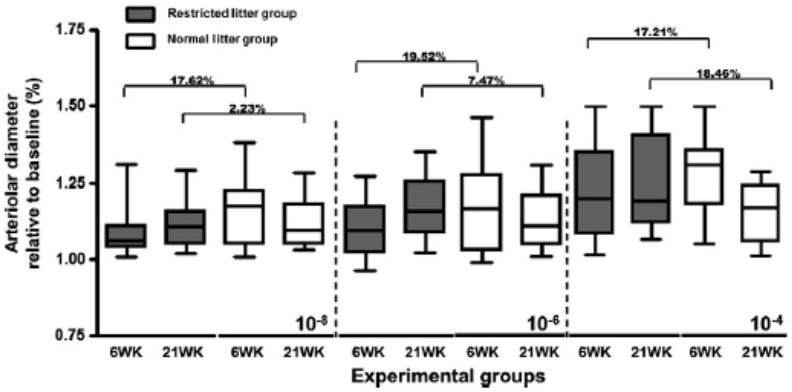


Fig. 2. Microvascular reactivity results after topical application of sodium nitroprusside in different concentrations (10^{-8}; 10^{-6} and 10^{-4}M). Percentual values represent quantitative difference between NL versus RL groups. 6 wk = 6 weeks; 21 wk = 21 weeks.

Table 1
Increment in body mass after birth on both groups.

	NL	RL
Day 3	4.79 ± 0.22	4.57 ± 0.16
Day 7	9.51 ± 0.23	11.12 ± 0.40*
Day 14	19.48 ± 0.53	22.89 ± 0.80*
Day 21	41.44 ± 0.72	50.11 ± 1.14*
Day 30	65.62 ± 1.35	77.25 ± 1.73*
Day 60	110.70 ± 2.35	122.00 ± 2.68*

All values are presented as mean ± standard error of the mean. * Significant difference between normal and restricted litter group ($p<0.05$).

One possible mechanism by which overnutrition induces body weight gain could be associated to hyperphagia starting at the beginning of life (Rodrigues et al., 2007, 2009). Furthermore, the literature has described leptin downregulation signaling pathway in the hypothalamus, which helps to explain greater body mass and high adiposity in the RL group (Rodrigues et al., 2009). Therefore, postnatal experimental overnutrition in hamsters seems to imprint them inducing higher growth rate early in life. Although, some authors have already described that even later in life some rodents keep the hyperphagia and greater amount of adiposity, we could obtain similar results using the hamster model. At 6th and 21st weeks, the restricted litter group has shown greater percentage of body fat than the normal litter one.

Several studies have demonstrated that increased adiposity induces elevated production of free fatty acids, angiotensinogen, leptin and resisitin and adipose tissue accumulation has been considered an important determinant of inflammatory cytokines and others (Hajer et al., 2008; Otto and Lane, 2005; Wellen and Hotamisligil, 2003). Increased fat mass is linked to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia, hypertension and increased risk for cardiovascular diseases.

Urogenital fat depot was significantly greater in the restricted litter group at 21st week and mesenteric and retroperitoneal fat depots tended to be greater as well in the RL group but did not reach statistical difference between the groups. The apparent controversy in the results could be attributed to greater subcutaneous fat deposition or greater fat-free mass. Recently, Conceição et al. demonstrated that early overnutrition promoted a specific fat depot hypertrophy (Conceicao et al., 2011). They have compared both subcutaneous and visceral adipocyte area in early overfed rats and found that visceral fat depot is more sensitive to fat accumulation than subcutaneous one. Furthermore, the fat distribution has been found to be an important determinant of endothelial dysfunction (Hashimoto et al., 1998) and is considered also a strong modulator of microvascular reactivity (Singer and Granger, 2007).

The mechanisms underlying the impaired vascular response later in life probably involves nitric oxide (NO) and others factors that mediate insulin vasodilator effects in combination with pro-inflammatory adipocytokines, such as IL-6 and TNF-α (Bourgoin et al., 2008; Scherrer et al., 1994; Steinberg et al., 1994). Several studies have demonstrated high levels of insulin and insulin/glucose ratio in early life. Thus, disturbances on glucose and lipid metabolism could be important factors to impair NO bioavailability and vasodilator effects (Galili et al., 2007). Another physiological consequence of early life overnutrition could be the high production of endothelium-derived contracting factors, such as endotelin-1. Endotelin-1 is a vasoconstrictor factor associated to endothelial-dependent vasoconstriction in rats and mice. Thus, we may speculate that impaired microvascular responses later in life could be attributed to changes in the profile of vasodilator and vasoconstrictor factors promoted by overnutrition in early life. Moreover, obesity-related endothelial dysfunction can induce high plasma levels of leptin (Knudson et al., 2005) and free fatty acids (de Kreutzenberg et al., 2000). However, mechanisms through which early life overnutrition induces endothelial dysfunction are not clear.

Overnutrition in early life can also affect the renal system promoting important physiological alterations that could also influence blood pressure control. Yim and co-workers (2011) demonstrated that postnatal early overnutrition decreased kidney/body weight ratio and promoted up-regulation of renin and angiotensin type II receptor. These data could represent higher activation of the renin–angiotensin system together with sympathetic stimulation resulting in hemodynamic alterations (Wahba and Mak, 2007).

Other important marker that may contribute to reduced endothelium-dependent vasodilatation on RL is the lipid profile. Postnatal overnutrition could modify the serum lipid profile inducing higher TC and LDL levels. Such alteration is strongly associated to an increased risk of cardiovascular disease and atherogenic profile. These results may be related to higher levels of fat percentage and fat depots found in the RL group compared to NL one. In humans, total cholesterol levels have been considered a parameter that impairs vasodilation (Creager et al., 1990, 1992).

In summary, we have presented evidence suggesting that postnatal overnutrition is associated to muscle endothelial-dependent microvascular dysfunction in later life, which could induce greater body mass, increase total fat percentage and impair the lipid profile. In the present study the imprinting promoted by the experimental model of obesity was able to influence microvascular reactivity later in life preceding the programming of obesity and dyslipidemia.

Table 2
Body composition, fat percentage and fat depots in the experimental periods.

	Normal litter group		Restricted litter group	
	6 wk (n = 6)	21 wk (n = 6)	6 wk (n = 6)	21 wk (n = 6)
Body mass(g)	106.82 ± 2.09	135.93 ± 2.48	120.25 ± 1.92*	153.62 ± 3.82#
Fat (%)	14.08 ± 0.37	26.14 ± 1.26	20.87 ± 0.69*	31.87 ± 2.19#
Uro depot	3.05 ± 0.25	3.22 ± 0.26	3.64 ± 0.32	4.04 ± 0.11#
Mes depot	2.45 ± 0.20	2.73 ± 0.21	2.85 ± 0.28	3.12 ± 0.19
Ret depot	1.46 ± 0.12	1.96 ± 0.19	1.95 ± 0.24	2.18 ± 0.15

All values are presented as mean ± standard error of the mean. * Significant difference from 6th week ($p<0.05$). # Significant difference from 21st week. Fat (%) = Fat percentage; Uro depot = Urogenital fat depot (g/100 g of body mass); Mes depot = Mesenteric fat depot (g/100 g of body mass); Ret depot = Retroperitoneal fat depot (g/100 g of body mass).

Table 3
Lipid profile of normal (NL) and restricted litter (RL) groups.

	Normal litter group		Restricted litter group	
	6 weeks (n = 6)	21 weeks (n = 6)	6 weeks (n = 6)	21 weeks (n = 6)
TC (mmol/l)	1.65 ± 0.04	2.25 ± 0.20	1.85 ± 0.05*	2.60 ± 0.27
HDL(mmol/l)	1.28 ± 0.09	1.64 ± 0.02	1.09 ± 0.15	1.51 ± 0.19
LDL(mmol/l)	0.27 ± 0.06	0.45 ± 0.06	0.46 ± 0.05*	0.59 ± 0.12
VLDL(mmol/l)	0.28 ± 0.02	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.02	0.35 ± 0.05
TGL(mmol/l)	1.41 ± 0.15	1.56 ± 0.20	1.44 ± 0.10	1.78 ± 0.25

All values are presented as mean ± standard deviation. *Significant difference from 6th week ($p<0.05$).TC = total cholesterol; HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein; VLDL = very low density lipoprotein; TGL = triglycerides.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

Authors would like to thank Dr. Simone da Silva Vargas for excellent technical assistance. Financial support was provided by the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

References

Baez, S., 1973. An open cremaster muscle preparation for the study of blood vessels by *in vivo* microscopy. Microvasc. Res. 5, 384–394.

Bourgoin, F., et al., 2008. Endothelial and vascular dysfunctions and insulin resistance in rats fed a high-fat, high-sucrose diet. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 295, H1044–H1055.

Conceicao, E.P., et al., 2011. Higher white adipocyte area and lower leptin production in adult rats overfed during lactation. Horm. Metab. Res. 43, 513–516.

Creager, M.A., et al., 1990. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. J. Clin. Invest. 86, 228–234.

Creager, M.A., et al., 1992. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. J. Clin. Invest. 90, 1248–1253.

Dantas, E.M., et al., 2010. Effects of chronic treadmill training on body mass gain and visceral fat accumulation in overfed rats. Braz. J. Med. Biol. Res. 43, 515–521.

de Kreutzenberg, S.V., et al., 2000. Plasma free fatty acids and endothelium-dependent vasodilation: effect of chain-length and cyclooxygenase inhibition. J. Clin. Endocrinol. Metab. 85, 793–798.

Faust, I.M., et al., 1980. Long-term effects of early nutritional experience on the development of obesity in the rat. J. Nutr. 110, 2027–2034.

Friedewald, W.T., et al., 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 18, 499–502.

Galili, O., et al., 2007. Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 292, H904–H911.

Hajer, G.R., et al., 2008. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. Eur. Heart J. 29, 2959–2971.

Hashimoto, M., et al., 1998. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 22, 477–484.

Jonk, A.M., et al., 2007. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. Physiology 22, 252–260.

Kennedy, G.C., 1957. The development with age of hypothalamic restraint upon the appetite of the rat. J. Endocrinol. 16, 9–17.

Knudson, J.D., et al., 2005. Leptin receptors are expressed in coronary arteries, and hyperleptinemia causes significant coronary endothelial dysfunction. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 289, H48–H56.

Lucas, A., et al., 2001. Randomized trial of nutrient-enriched formula versus standard formula for postdischarge preterm infants. Pediatrics 108, 703–711.

Otto, T.C., Lane, M.D., 2005. Adipose development: from stem cell to adipocyte. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 40, 229–242.

Plagemann, A., 2006. Perinatal nutrition and hormone-dependent programming of food intake. Horm. Res. 65 (Suppl. 3), 83–89.

Plagemann, A., et al., 1999. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. Brain Res. 836, 146–155.

Rodrigues, A.L., et al., 2009. Postnatal early overnutrition changes the leptin signalling pathway in the hypothalamic–pituitary–thyroid axis of young and adult rats. J. Physiol. 587, 2647–2661.

Rodrigues, A.L., et al., 2011. Postnatal early overfeeding induces hypothalamic higher SOCS3 expression and lower STAT3 activity in adult rats. J. Nutr. Biochem. 22, 109–117.

Rodrigues, A.L., et al., 2007. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. J. Endocrinol. 195, 485–494.

Scherrer, U., et al., 1994. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. J. Clin. Invest. 94, 2511–2515.

Singer, G., Granger, D.N., 2007. Inflammatory responses underlying the microvascular dysfunction associated with obesity and insulin resistance. Microcirculation 14, 375–387.

Steinberg, H.O., et al., 1994. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. J. Clin. Invest. 94, 1172–1179.

Wahba, I.M., Mak, R.H., 2007. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: mechanistic links to chronic kidney disease. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2, 550–562.

Warner, M.J., Ozanne, S.E., 2010. Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. Biochem. J. 427, 333–347.

Wellen, K.E., Hotamisligil, G.S., 2003. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. J. Clin. Invest. 112, 1785–1788.

Yim, H.E., Ha, K.S., Bae, I.S., Yoo, K.H., Hong, Y.S., Lee, J.W., 2011. Postnatal early overnutrition dysregulates the intrarenal renin-angiotensin system and extracellular matrix-linked molecules in juvenile male rats. J. Nutr. Biochem.

ANEXO C

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCANTARA GOMES

COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº **CEUA/060/2012** sobre **"Efeitos do treinamento resistido em ratos alimentados com dieta hiperlipidica"**, sob a responsabilidade de **Luiz Ghilherme Kraemer de Aguiar,** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEUA), em **11/10/2012.** Este certificado expira em **11/10/2016.**

Rio de Janeiro, 11 de Outubro de 2012.

Profa. Patricia Cristina Lisboa
CEUA/IBRAG/UERJ

Prof. Israel Felzenszwalb
CEUA/IBRAG/UERJ

Profª Dra. Patrícia Cristina Lisboa da Silva
Profª Adj. do Depto. Ciências Fisiológicas / IBRAG / UERJ
Matrícula 34765-8

/.ass

☎ (21) 2587-6488 / 2587-6109 - Fax (21) 2284-9748
biologia@uerj.br