UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS
Núcleo de Pesquisa e Extensão em Ciências do Movimento Corporal
Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental

ALEXANDRE BARROSO MELO

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A CINÉTICA DE CÁLCIO INTRACELULAR MIOCÁRDICA DE RATOS OBESOS

VITÓRIA
2017

ALEXANDRE BARROSO MELO

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A CINÉTICA DE CÁLCIO INTRACELULAR MIOCÁRDICA DE RATOS OBESOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* - Mestrado em Educação Física do Centro de Educação Física e Desportos, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. André Soares Leopoldo

VITÓRIA

2017

EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A CINÉTICA DE CÁLCIO INTRACELULAR MIOCÁRDICA DE RATOS OBESOS

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

_____
Prof. Dr. André Soares Leopoldo
Orientador

_____
Prof. Dr. Leonardo dos Santos
Membro externo

_____
Prof. Dr. Rodrigo Luiz Vancini
Membro interno

_____
Prof. Dra. Luciana Carletti
Membro suplente interno

_____
Prof. Dr. Richard Diego Leite
Membro suplente externo

Dedicatória

Dedico à Deus, minha rocha, meu abrigo e meu amigo incondicional que sempre dirige meus passos, me dá forças para lutar, me ensina e ilumina minhas decisões.

Dedico aos meus pais que amo tanto, me apoiam nos estudos, fazem o máximo que podem para me ajudar a conquistar meus objetivos, exemplos pra mim de luta e perseverança, estão sempre ao meu lado e oram por mim.

Dedico ao meu irmão, companheiro e exemplo pra mim desde criança, homem que sou apaixonado e tenho profunda gratidão pelo simples fato dele existir. Dedico a ele também pelos conselhos de sempre.

Dedico aos meus avós, alguns já falecidos que foram e são pessoas maravilhosas, meus segundos pais que cuidaram e cuidam de mim junto com a minha família.

Dedico aos meus professores de Faculdade Thiago Schroeder Mottas, Luiz Duarte Rocha Junior, Christian Remigio Rodrigues e Evandro por serem exemplos de professores e pela dedicação em ensinar-me, inspirar-me e motivar-me a buscar ser melhor na profissão que escolhi.

Agradecimentos

Agradeço à Deus por ser meu abrigo, por ter me ajudado a vencer todas as dificuldades desse mestrado, pelas bênçãos, pela saúde, pela proteção e cuidado todo esse tempo. Obrigado pelas pessoas que colocou em minha vida, tanto as boas quanto as ruins.

Agradeço ao meu orientador André Soares Leopoldo pelo companheirismo, pela confiança que depositou em mim, por conseguir tirar o máximo de mim e me fazer enxergar que posso ir além naquilo que eu quiser. Admiro sua garra!

Agradeço a professora Ana Paula Lima-Leopoldo pelas orientações e também companheirismo na produção deste trabalho e também de outros. Admiro seu capricho!

Agradeço ao professor Lucas Guimarães Ferreira pela amizade, pelas discussões, pela companhia em congressos, pelo companheirismo na produção deste trabalho e também de outros. Admiro sua paciência, conhecimento e humildade! Aprendi com o senhor a ter mente de principiante!

Agradeço ao Jóctan Pimentel Cordeiro por ter me dado apoio para entrar no mestrado e me apresentado ao laboratório para que pudesse acompanhar o desenvolvimento de projetos. Obrigado também por torcer sempre por mim! Torço muito por você!

Agradeço ao Vitor Loureiro da Silva por ter me ajudado, me orientado e me ensinado a escrever o pré-projeto deste trabalho, sem você eu não teria entrado. Você é meu exemplo de humildade e foco!

Agradeço aos colegas Arthur Ferron, Felipe de Sá e Vanessa que me receberam e me ensinaram muito no laboratório antes de eu entrar no mestrado.

Agradeço às minhas companheiras de projeto Andressa Prata Damiani e Catarina Entringer Contreiro por compartilharem comigo das mesmas lutas e obstáculos e por tornarem meus dias menos cansativos e monótonos, com mais positividade, sorrisos e brincadeiras.

Agradeço ao Itamar Couto Guedes de Jesus do Laboratório de Sinalização Intracelular em Cardiomiócitos , UFMG- Belo Horizonte por ter me recebido com tanto carinho, se colocando a minha disposição durante o tempo que permaneci contigo, ter se tornado um amigo que vou perturbar o resto da vida e me ensinado a técnica mais importante deste projeto para que eu pudesse realizá-la. Um anjo que Deus colocou na minha vida e eu sempre serei grato a você.

Agradeço à Priscila Murucci Coelho por ter estado comigo acima de qualquer circunstância e me ajudado e apoiado durante a fase mais importante e delicada deste projeto. Um anjo que Deus colocou na minha vida e com certeza sem você este trabalho não teria relevância alguma. Admiro a sua garra e perseverança!

Agradeço ao meu companheiro de mestrado Leonardo Carvalho Caldas por dividir contigo as minhas lutas, por estar comigo desde o início, por me ajudar a desenvolver parte deste projeto, pelas discussões e pelos ensinamentos. Tive a honra de ter você, uma pessoa de inteligência e simplicidade acima da média como companheiro de mestrado. Você é um exemplo pra mim!

Agradeço aos colegas do LAFIBE Taynan, Amanda, Wagner, Izabor, Betina, Rodrigo, Jean, Arthur, e dos laboratórios vizinhos pelas companhias, pelas conversas, pelos cafés e as brincadeiras de sempre.

Agradeço ao Rodolfo, veterinário do biotério central de Maruípe por ser uma pessoa muito solícita, atenciosa e companheira. Obrigado por me ajudar sempre!

Agradeço aos funcionários do NUPEM pela disposição em ajudar sempre e por tornarem o ambiente mais agradável e alegre.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) por fomentar esta pesquisa e a CAPES pelo apoio financeiro prestado para que eu pudesse me dedicar ao projeto. Vocês são muito importantes para desenvolvimento científico do país!

Epígrafe

"Tudo nos é dado só nos falta fé."

Mato seco

RESUMO

A obesidade é uma doença crônica metabólica, sendo atualmente considerada epidemia mundial. A condição obesa pode acarretar em disfunção cardíaca através do aumento crônico na sobrecarga hemodinâmica imposta ao coração, comprometendo proteínas intracelulares responsáveis pela contração e relaxamento miocárdico. Trabalhos crescentes demonstram benefícios cardiovasculares causados pelo treinamento físico resistido (TFR) tanto em condições saudáveis quanto na presença de doenças. O presente estudo apresentou como objetivo avaliar a função cardíaca e a cinética de Ca^{+2} intracelular em cardiomiócitos isolados de ratos obesos submetidos ao TFR. Foram analisados 58 ratos *Wistar* distribuídos de forma aleatória incialmente em 2 grupos experimentais: Controle (C, dieta padrão) e Obeso (Ob, dieta hiperlipídica) tratados por 16 semanas. Após este período os animais de cada grupo foram randomizados quanto à ausência e presença de TFR, assim formando 4 grupos: Controle (C), Obeso (Ob), Controle submetido ao TFR (CTr) e obeso submetido ao TFR (ObTr). O protocolo de TFR foi realizado por 10 semanas, 3 vezes na semana, em dias alternados em uma escada vertical adaptada para ratos com 4 a 5 sessões de subida. Observou-se que **o peso corporal final (g)** e a **gordura corporal (g)** mostraram-se diferentes estatisticamente entre os grupos Ob em relação ao grupo C (C= 478 ± 36 *vs.* Ob= 623 ± 67; $p<0,05$) e ObTr em relação ao CTr (CTr= 472 ± 44 *vs.* ObTr= 579 ± 57; $p<0,05$). **A área sob a curva** foi maior (27,5%) no grupo Ob comparado ao C (C=719,0 ± 52,2 *vs*. Ob= 917,0 ± 192,5), assim como no ObTr comparado ao CTr (CTr= 747,8 ± 114,5 *vs*. ObTr= 912,6 ± 178,5; ObTr > CTr, 22,03%). Os **valores pressóricos** não foram diferentes entre os grupos experimentais. As **variáveis contráteis de cardiomiócitos** isolados mostraram diferença significativa para o **encurtamento** (C= 7,12 ± 2,56; CTr= 11,04 ± 3,72; ObTr= 8,57 ± 2,02) e **velocidade máxima de encurtamento** (µm/s) (C= 1,60 ± 0,65; CTr= 3,37 ± 1,27; ObTr= 2,53 ± 0,69) sendo maiores no grupo CTr em relação ao grupo C e ObTr, respectivamente; a velocidade máxima de encurtamento também foi maior no grupo ObTr em relação ao grupo Ob. Os resultados da **cinética de Ca^{+2} intracelular** miocárdica mostraram que o grupo ObTr apresenta valores significativamente maiores para a **velocidade de liberação** - µm/s (Ob= 18,55 ± 17,25 *vs*. ObTr= 53,75 ± 61,04) e **recaptura de Ca^{+2}** - µm/s (Ob= 5,126 ± 3,703 *vs*. ObTr= 5,774 ± 3,277 µm/s), **Ca^{+2} sistólico** - nM (Ob= 1,05 ± 1,2 *vs*. ObTr= 1,22 ± 2,29) e **tempo até o pico de Ca^{+2}** - ms (Ob= 67,59 ± 25,09 *vs*. ObTr= 56,56 ± 18,86). Em conclusão, o treinamento resistido foi capaz de prevenir a disfunção cardíaca de ratos obesos decorrente de melhora na cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica, obesidade, treinamento físico resistido, coração, cinética de cálcio

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca^{+2} – Cálcio

RS - Retículo Sarcoplasmático

RYR - Receptor de Ryanodina

Canal L – Canal de cálcio do tipo L

Serca2a – Bomba de cálcio do RS

NCX – Trocador sódio/cálcio

PLB - Fosfolambam

TFA – Treinamento físico aeróbico

TFR – Treinamento físico resistido

CEUA – Comissão de ética no uso de animais

C – Grupo controle

Ob – Grupo obeso

PC – Peso corporal

PCI – Peso corporal inicial

PCF – Peso corporal final

PS – Ponto de separação

IA – Índice de adiposidade

EA – Eficiência alimentar

CTr – Grupo controle submetido ao treinamento físico resistido

ObTr – Grupo obeso submetido ao treinamento físico resistido

TCM – Teste de carga máxima

CC – Carga conduzida

CM – Carga máxima

GC – Gordura corporal

PAS – Pressão arterial sistólica

PAD – Pressão arterial diastólica

AT – Átrio total

VE – Ventrículo esquerdo

VD – Ventrículo direito

DB – Digestion Buffer

EGTA – Ácido etileno glicol tetracético

PCF – Peso corporal final

HEPES- N-2-hidroxietil piperazina N-2-etano sulfônico

PE - percentual de encurtamento

VME - velocidade máxima de encurtamento

VMR - velocidade máxima de relaxamento

t encurt$_{50\%}$ – 50% do pico de encurtamento

t relax$_{50\%}$ – 50% do pico de relaxamento

ANOVA – Análise de variância

TG – Triglicerídeos

TTG – Teste de tolerância à glicose

PAM – Pressão arterial média

FC – freqüência cardíaca

GLP-1 - peptídeo semelhante ao glucagon 1

TNF-α – Fator de necrose tumoral-α

LHS – Lipase hormônio sensível

LTGA – Lipase de triglicerídeo adiposo

NO – Óxido nítrico

GLUT 4 – Transportador de glicose 4

MMP-2 – Metaloproteinases-2

TGF-β1 – Fator de crescimento transformante-β1

AST – Área de secção transversa

EFGR – Fator de crescimento epidermal

mTOR – alvo de rapamicina em mamíferos

PLB – Fosfolambam

miRINA – micro RNA

IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina

Akt – Proteína kinase B

PI3K - Fosfatidilinositol-3-quinase

C/EBPβ - Ccaat-enhancer-binding proteins-β

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

2. MATERIAL E MÉTODOS 19

2.1 Protocolo Experimental 20

2.2 Composição das Dietas 21

2.3 Redistribuição dos Grupos 22

2.5 Eutanásia 27

2.6 Avaliação do Estado Nutricional 27

2.7 Pressão Arterial 27

2.8 Teste de Tolerância à Glicose 28

2.9 Análise da Morfologia Cardíaca 28

2.10 Determinação do Teor de Água nos Tecidos 29

2.11 Cardiomiócito Isolado 29

2.11.1 Isolamento do cardiomiócito 29

2.11.2 Contratilidade Miocárdica 30

2.11.3 Parâmetros Funcionais Miocárdico 31

2.11.4 Análise da Cinética de Ca^{2+} intracelular 32

2.12 Análise Estatística 33

3. RESULTADOS 34

4. DISCUSSÃO 47

4.1 Protocolo de Treinamento Físico Resistido 47

4.1 Características Gerais 48

4.4 Remodelação Cardíaca 53

4.4 Função Cardíaca e Transiente de Cálcio 56

5. CONCLUSÃO 60

6 . REFERÊNCIAS 61

7. ANEXO 1- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA 85

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica metabólica de origem multifatorial caracterizada por aumento do peso corporal devido ao acúmulo excessivo de tecido adiposo (WHO, 2012; CARVAJAL *et al*., 2014). Atualmente, é considerada epidemia global e importante problema de saúde pública, podendo desencadear várias comorbidades (DOURMASHKIN *et al*., 2005; NGUYEN & EL-SERAG, 2010; CARVAJAL *et al*., 2014). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2016, 1,9 bilhões de adultos apresentavam sobrepeso no mundo, sendo que destes, 650 milhões eram obesos (WHO, 2016).

Autores apontam que nas últimas décadas vem ocorrendo crescimento progressivo da taxa de obesidade no Brasil relacionado intimamente ao declínio da desnutrição, fenômeno conhecido como período de transição nutricional (BATISTA *et al*., 2003; FLEPISI *et al*., 2013). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que em 2008 metade dos adultos acima dos 20 anos de idade estava com sobrepeso no Brasil (IBGE, 2013). Valores semelhantes foram encontrados em pesquisa realizada em 2014 pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO), a qual indicou prevalência de 50,8% da população brasileira com excesso de peso, e que sua incidência vem crescendo ao longo dos anos tanto em mulheres como em homens (ABESO, 2015).

Estudos que abordam as causas da obesidade humana demonstram que sua etiologia é multifatorial (FRANCISCHI *et al*., 2000; KUMAR *et al.*, 2010; CARVAJAL *et al*., 2014) e envolve a interação de fatores fisiológicos, genéticos, comportamentais, ambientais, sociais e culturais que podem desencadear mecanismos fisiopatológicos que levam o indivíduo ao acúmulo de tecido adiposo (FRANCISCHI *et al*., 2000; DANG & HASHEM, 2010; KUMAR *et al.*, 2010; RACETTE *et al*., 2013). Dentro deste contexto, destacam-se os fatores ambientais, caracterizados por pessoas que adotam padrões alimentares a partir de dietas hipercalóricas, associadas ou não com o baixo nível de atividade física, os quais são os

maiores contribuintes para essa doença (ECKEL *et al*., 2002; DANG & HASHEM, 2010; GIELEN *et al*., 2010; WHO, 2012).

A exposição crônica à obesidade tem sido destacada como agravo nutricional associado à alta incidência de morbidades, podendo determinar maior pré-disposição ao câncer, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial e dislipidemias (ECKEL *et al*., 2002; STEINBERG *et al*., 2004; ROBERTS *et al*., 2010; WHO, 2012; HALL *et al*., 2015; STENKAMP-STRAHM *et al*., 2015), condições que tornam o indivíduo propenso ao desenvolvimento de distúrbios cardiovasculares (ECKEL *et al*., 2002; SOLTANI *et al*., 2015). Desta forma, a obesidade é um importante determinante para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GIELEN *et al*., 2010; LEOPOLDO *et al*., 2011; CARVAJAL *et al*., 2014), influenciando o perfil de mortalidade das populações, e, consequentemente, reduzindo a expectativa de vida (WILSON *et al*., 2002; FONTAINE *et al*., 2003; HU *et al*., 2004; PARDO SILVA *et al*., 2006).

O estudo das consequências da obesidade sem a presença de comorbidades para o coração tem sido um desafio para os pesquisadores, pois esta relação torna-se mais íntima considerando a quantidade de acúmulo de tecido adiposo (MAHAJAN *et al*., 2015). Contudo, a condição obesa, *per si*, mesmo sem a presença de outros fatores de risco para o coração é suficiente para induzir disfunção cardíaca tanto em humanos como em modelos experimentais (WONG *et al*., 2004; TAPP *et al*., 2014; ZENG *et al*., 2015). Segundo a ABESO (2015), a obesidade é um fator de risco independente para a predisposição das seguintes doenças cardiovasculares: infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral, hipertensão e fibrilação atrial.

Estudos têm demonstrado que mudanças morfológicas cardíacas, como rigidez miocárdica e remodelação ventricular, assim como, alterações funcionais caracterizadas por disfunções sistólica e diastólica no coração são consequentes do acúmulo de tecido adiposo

(ECKEL *et al*., 2002; DONG *et al*., 2006; RELLING *et al*., 2006; REN *et al*., 2008; LEOPOLDO *et al*., 2010; LEOPOLDO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011; QIN *et al*., 2012; CARVAJAL *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014; FERRON *et al*., 2015; ZENG *et al*., 2015). Dentro deste contexto, Lima-Leopoldo *et al.* (2014) identificaram que períodos prolongados de obesidade induzida por dieta hiperlipídica insaturada em ratos *Wistar* promovem alterações da função diastólica. Esses dados corroboram Qin *et al.* (2012) que demonstraram que a obesidade induzida por dieta rica em açúcar e alto teor de gordura durante 8 meses é associada com doenças cardíacas metabólicas que promovem hipertrofia miocárdica, disfunção diastólica e fibrose intersticial. Além disso, outro estudo destaca que a indução da obesidade por meio de dieta hiperlipídica em camundongos durante 16 semanas, acarreta disfunção cardíaca sistólica (ZENG *et al*., 2015).

Os prejuízos no desempenho cardíaco, tanto em humanos quanto em modelos experimentais ocorrem com a elevação da quantidade de tecido adiposo. Pesquisadores têm sugerido que o prejuízo funcional em modelos de obesidade pode ser decorrente de anormalidades na cinética de cálcio (Ca^{+2}) intracelular miocárdico (RELLING *et al*., 2006; REN *et al*., 2008; LEOPOLDO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011).

O trânsito de Ca^{+2} intracelular é um dos principais mecanismos reguladores de contração e relaxamento miocárdico (OPIE, 1998; BERS, 2002). A contração cardíaca inicia-se na unidade celular, com a abertura dos canais lentos de Ca^{+2} (Canal L) com consequente influxo de Ca^{+2} para o interior do miócito (BERS, 2002). O influxo de Ca^{+2} desencadeia liberação de grande quantidade de Ca^{+2} a partir do retículo sarcoplasmático (RS) por meio dos receptores de rianodina (RyR), mecanismo conhecido como liberação de Ca^{+2} induzida por Ca^{+2} (FABIATTO, 1983). O aumento do Ca^{+2} citosólico possibilita a ligação desse íon com a troponina C e a interação actina-miosina, caracterizando a contração miocárdica. Após o evento excitação-contração, inicia-se o relaxamento miocárdico à custa da diminuição da

quantidade de Ca^{+2} citosólico. O relaxamento ocorre a partir da remoção rápida dos íons Ca^{+2} para dentro do RS e a extrusão desses para o meio extracelular. O processo de recaptura de Ca^{+2} para o interior do RS é realizado pela bomba de Ca^{+2} do RS (SERCA2a). Outras proteínas, como o trocador Na^{+}/Ca^{+2} (NCX) e a bomba de Ca^{+2} do sarcolema atuam como reguladores do efluxo de Ca^{+2} (BERS, 2002). Pesquisadores têm proposto que prejuízos tanto na contração quanto no relaxamento miocárdico podem estar associados principalmente com alterações na expressão ou função de canais e de proteínas envolvidas nesta homeostase (REN *et al*., 2000; RELLING *et al*., 2006; LEOPOLDO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011; LIN *et al*., 2012; CARVAJAL *et al*., 2014).

Assim também, a disfunção sistólica na obesidade tem sido relacionada com mecanismos que envolvem a liberação de Ca^{+2} no citosol (PAULINO *et al*., 2010; LEOPOLDO *et al*., 2011). Em estudo experimental, após 15 semanas ratos *Wistar* obesos alimentados por dieta hiperlipídica apresentaram disfunção miocárdica (diminuição da tensão desenvolvida) associada ao prejuízo na função dos canais lentos de Ca^{+2} (LEOPOLDO *et al*., 2011). Paulino *et al.* (2010) mostram que ratos *Wistar* obesos alimentados com dieta hiperlipídica e sacarose após 35 semanas desenvolveram disfunção cardíaca relacionada a redução da fosforilação do RyR na Serina 2809.

Os prejuízos no relaxamento miocárdico seguido por um retardo na recaptura e/ou extrusão do Ca^{+2} citosólico tem ajudado a explicar os mecanismos envolvidos na disfunção diastólica na obesidade (RELLING *et al*., 2006; FLEPISI *et al*., 2013). Flepisi *et al*. (2013) mostraram que ratos obesos alimentados por dieta hiperlipídica durante 16 semanas apresentam diminuição significativa na atividade e expressão proteica de SERCA2a e menor fosforilação da fosfolambam (PLB) no miócito ventricular. Estudo realizado em ratos *Sprague-Dawley* obesos alimentados com dieta hiperlipídica por 12 semanas também observaram prejuízos na função contrátil cardíaca e redução da fosforilação da PLB

(RELLING *et al*., 2006). Trabalhos realizados em nosso laboratório demonstram que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica acarreta a supra-regulação de genes envolvidos no transporte de Ca^{+2} e diminuição na fosforilação das proteínas envolvidas nessa cinética (LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2008; LEOPOLDO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2013; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014;).

Medidas farmacológicas e não farmacológicas têm sido utilizadas com a finalidade de reverter ou atenuar os prejuízos cardíacos oriundos de diversas morbidades. Dentro desse contexto, a literatura destaca que o exercício físico tem sido a principal ferramenta não farmacológica estudada, por causar alterações bioquímicas, elétricas, morfológicas e mecânicas que condicionam e melhoram a função cardíaca (NATALI *et al*., 2004; MEDEIROS *et al*., 2011; LEITE *et al*., 2013). Alterações cardíacas induzidas pelo exercício físico promove adaptação fisiológica, a qual é necessária para manutenção do desempenho cardíaco em condições de sobrecarga circulatória e, ao mesmo tempo, acarretam dilatação das artérias para atender a demanda de nutrientes miocárdico (GROSSMAN *et al*., 1975; NATALI *et al*., 2004; GHORAYEB *et al*., 2005). Natali *et al.* (2004) mostram que sessões repetidas de exercício aeróbico promovem respostas adaptativas positivas ao sistema cardiovascular, incluindo bradicardia associada ao aumento no volume final diastólico ventricular, massa miocárdica e volume de ejeção. Contudo, os benefícios promovidos pelo exercício físico ao coração dependem dos fatores de intensidade, duração e modalidade do treinamento (DE SOUZA *et al*., 2014).

Nesse sentido, o treinamento físico aeróbico (TFA) tem sido amplamente benéfico à função cardíaca tanto no coração saudável quanto em condições patológicas (OLIVEIRA *et al*., 2009; LOCATELLI *et al*., 2014). No entanto, trabalhos que investigaram as adaptações cardíacas associadas ao treinamento físico resistido (TFR) são escassos. Sendo assim, poucos estudos investigaram e compararam os efeitos de diferentes modalidades de TFR sobre o

processo de remodelação miocárdica (AHMADIASL *et al*., 2012; DE SOUZA *et al*., 2014). De Souza *et al.* (2014) verificaram em cardiomiócitos de ratos *Wistar* que o TFR por 8 semanas foi mais eficiente quando comparado ao TFA isolado e combinado com o resistido. Os autores destacam que o TFR promove adaptações morfológicas na densidade capilar e espessura da parede do ventrículo esquerdo, além de acarretar aumento da área seccional transversa do cardiomiócito, diâmetro de colágeno fibrilar e fração de volume de colágeno intersticial, no entanto, o estudo não avaliou a função cardíaca destes animais. Outro estudo conduzido em ratos *Wistar*, mostrou que, o TFR, realizado durante 1 e 3 meses, foi capaz de aumentar a velocidade de contração e relaxamento do ventrículo esquerdo acompanhado por aumento no fluxo sanguíneo coronário (AHMADIASL *et al*., 2012).

Em condição patológica, a influência do TFR sobre a função cardíaca tem demonstrado efeitos positivos (GRANS *et al*., 2012; LIMA *et al*., 2012; LEITE *et al*., 2013; ALVES *et al*., 2014). Alves *et al.* (2014). Alves *et al* (2014) mostraram que o TFR realizado por 8 semanas foi eficiente em melhorar a função cardíaca de ratos com insuficiência cardíaca crônica. Em modelo experimental de diabetes *mellitus*, o TFR foi capaz de reduzir o remodelamento patológico e reverter o prejuízo funcional sistólico no coração nestes animais (MOSTARDA *et al*., 2014).

Em relação à cinética de Ca^{+2} miocárdico, o exercício físico tem sido capaz de alterar a atividade e expressão de proteínas moleculares que conduzem às adaptações fundamentais e para a melhora da contração e relaxamento em diversos modelos fisiológicos e patológicos (WISLOFF *et al*., 2001; DIFFEE, 2004; FERNANDES *et al*., 2011; LOCATELLI *et al*., 2014; MELO *et al*., 2015). Estudos mostram que o TFA realizado tanto em baixa como alta intensidade, melhora a contratilidade miocárdica associada aos benefícios no trânsito de Ca^{+2} intracelular, bem como ao aumento da sensibilidade dos miofilamentos a este íon em cardiomiócitos isolados (NATALI *et al*., 2004; KEMI *et al*., 2007; LEITE *et al*., 2013;

LOCATELLI *et al*., 2014). Contudo, os efeitos do TFR sobre a cinética do cálcio intracelular são pouco estudados (MELO *et al*., 2015). Melo *et al.* (2015), ao analisarem cardiomiócitos isolados de ratos *Wistar* saudáveis, mostraram que este tipo de treinamento aumentou significativamente a velocidade de contração e relaxamento acompanhado por aumento nos níveis de expressão proteica de SERCA2a.

Na obesidade, as informações sobre as adaptações cardiovasculares relacionadas com o trânsito de Ca^{+2} intracelular induzidas pelo exercício físico são escassas (PAULINO *et al*., 2010). Segundo Paulino *et al.* (2010), o exercício físico aeróbico previne a disfunção cardíaca de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica, por meio da manutenção da fosforilação da PLB na treonina 17 e prevenção da redução da fosforilação do RyR na Serina. Contudo a relação entre a obesidade, exercício físico resistido e trânsito de cálcio ainda necessita ser esclarecida.

Devido à escassez de informações e estudos que abordem as adaptações cardíacas associadas às mudanças no trânsito de Ca^{+2} pelo TFR na obesidade, a proposta deste estudo foi avaliar a função cardíaca e a cinética de Ca^{+2} intracelular em cardiomiócitos isolados de ratos obesos submetidos ao TFR. Além disso, este estudo visou analisar o perfil de morbidades associadas à obesidade, bem como a estrutura macroscópica e microscópica miocárdica, na presença ou ausência de TFR. A hipótese é que o TFR na obesidade acarreta benefícios na função miocárdica associado a melhora na cinética do Ca^{+2} intracelular.

2. MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados 58 ratos *Wistar* machos (≈ 150 g), com 30 dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de polipropileno com tampas de arame cromado forradas com maravalha de *Pinus* peneirada. O

ambiente foi controlado com temperatura 24 ± 2°C, umidade 55 ± 5% e ciclo claro-escuro invertido de 12 horas. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o "*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals"* publicado pelo "*U.S. National Institutes of Health*" e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Espírito Santo (protocolo 16/2016).

2.1 Protocolo Experimental

Os animais foram aclimatados por um período de sete dias. Após a aclimatação, foram distribuídos de forma randomizada em caixas individuais em dois grupos: a) controle: alimentados com dieta normocalórica (C, n= 29) e; b) obeso: alimentados com dieta hiperlipídica insaturada (Ob, n= 29). Ambos os grupos receberam 40g de ração e após 24 horas a quantidade de ração não ingerida foi mensurada em balança de precisão (Edutec, capacidade 5000g). A oferta de água foi *ad libitum*.

Após o período de aclimatação e randomização, os animais foram submetidos ao protocolo experimental de acordo com o tipo de dieta ofertada (momento 0). Os animais tratados com dieta hiperlipídica passaram por um período de indução à obesidade (momento 1) com intuito de caracterização do momento inicial da obesidade. Este momento foi determinado a partir da diferença estatística no valor médio do peso corporal (MPC) entre os grupos experimentais (C *versus* Ob), conforme descrito em estudos prévios realizados em nosso laboratório (LEOPOLDO et al., 2011; LIMA-LEOPOLDO et al., 2014). Subsequente ao período de indução à obesidade, os animais foram mantidos nessa condição por 15 semanas consecutivas, momento denominado de manutenção da obesidade (momento 2). Por fim, após o período de manutenção da obesidade, os grupos experimentais realizaram o protocolo de treinamento físico resistido (TFR) em escada por 10 semanas.

O período total do experimento consistiu em 26 semanas, sendo dividido em quatro momentos, conforme demonstrado na Figura 1:

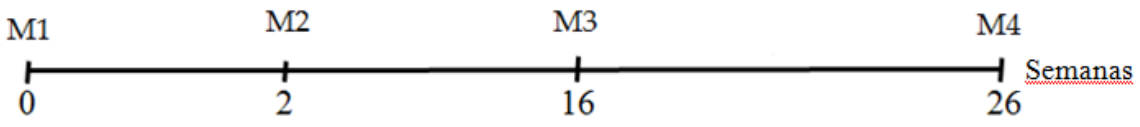

Figura 1. Representação esquemática do delineamento experimental.

M1: Início do protocolo experimental; indução à obesidade.

M2: Início da obesidade.

M3: Caracterização da obesidade e redistribuição dos grupos para o início do protocolo de TFR.

M4: Fim do protocolo experimental; eutanásia e realização das análises do estudo.

2.2 Composição das Dietas

As dietas fornecidas apresentavam quantidades suficientes de proteínas, vitaminas e minerais de acordo com as *Exigências de Nutrientes para Animais de Laboratório* (Benevenga et al, 1995). Os animais C receberam dieta padrão para roedores contendo 13,9% de suas calorias provenientes de gordura, 55,9% de carboidratos e 30,2% de proteínas (Nuvilab CR1-Nuvital, Colombo, Paraná, Brasil). A ração padrão foi composta pelos seguintes ingredientes: milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, *premix* vitamínico mineral e aminoácidos. Os animais Ob receberam um ciclo de quatro dietas hiperlipídicas contendo 49,2% de suas calorias provenientes de gordura, 28,9% de carboidratos e 21,9% de proteínas (RC Focus 2413, 2414, 2415 e 2416, Agroceres, Rio Claro, São Paulo, Brasil), as quais apresentavam a mesma composição nutricional, com exceção dos aditivos flavorizantes (queijo, bacon, chocolate e baunilha). As rações hiperlipídicas foram constituídas de cloreto de sódio, caseína, soro de leite em pó, concentrado proteico de soja, milho integral moído, farinha de bolacha, fosfato bicálcico, carbonato de cálcio, óleo de milho, aditivos emulsificante e

antioxidante, suplemento mineral e vitamínico, e foram fornecidas durante todo o protocolo experimental.

A composição de macro e micronutrientes das rações padrão e hiperlipídica está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição dos macro e micronutrientes das dietas (%)

	Dietas	
Componentes	**Padrão**	**Hiperlipídica**
Proteína	22,0	20,0
Carboidrato	40,8	26,4
Gordura	4,5	20,0
Vitaminas e Minerais	12,2	12,1
Fibras	8,0	9,0
Umidade	12,5	12,5
Calorias (Kcal/g)	2,92	3,65
Calorias da proteína (%)	30,2	21,9
Calorias do carboidrato (%)	55,9	28,9
Calorias da gordura (%)	13,9	49,2

2.3 Redistribuição dos Grupos

Ao longo do protocolo experimental, quatro (4) animais do grupo C e um (1) animal do grupo Ob foram a óbito por causas indeterminadas, permanecendo nos grupos experimentais C e Ob, 25 e 28 animais, respectivamente.

Ao final do protocolo de manutenção da obesidade, com o intuito de constituir dois grupos homogêneos, sendo o grupo C constituído apenas por animais com características de controle e o grupo Ob apenas por animais com características de obeso, foi construído intervalo de confiança de 95%, baseado nas médias do peso corporal dos ratos C e Ob. A partir dessas informações foi construído e aplicado um ponto de separação (PS) entre os

grupos, o qual consiste em um ponto médio entre o limite superior do grupo C e o imite inferior do grupo Ob ([peso mais alto do grupo C + peso mais baixo do grupo Ob]/2 = ponto médio para determinação dos grupos), conforme a Figura 2. A partir deste ponto, foram excluídos do grupo C animais com peso corporal acima do PS, bem como do grupo Ob animais com peso corporal abaixo do PS.

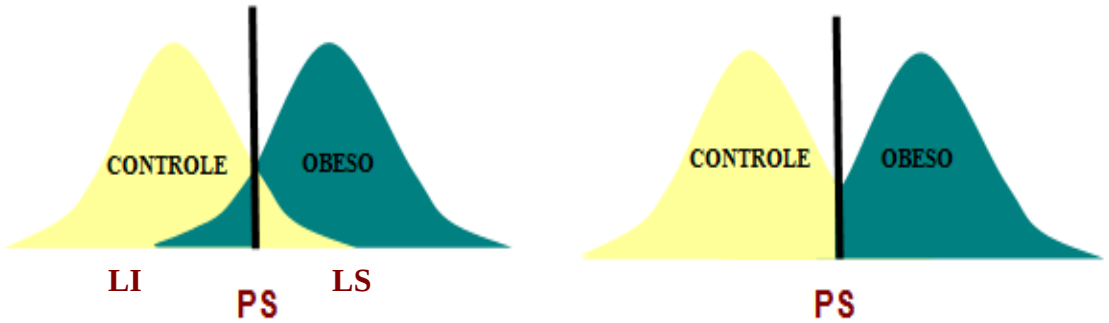

Figura 2. Representação esquemática do critério utilizado para composição dos grupos controle e obeso antes da redistribuição dos grupos quanto à ausência ou presença do treinamento físico resistido. PS: Ponto de Separação.

Após o processo de composição dos grupos, os animais dos grupos C e Ob foram redistribuídos em mais dois (2) grupos experimentais quanto à ausência ou presença do TFR. Sendo assim, na terceira etapa do protocolo experimental, esse estudo foi composto por quatro grupos: controle (C = 10), controle submetido ao protocolo ao TFR (CTr = 10), obeso (Ob = 10) e obeso submetido ao TFR (ObTr = 10), de acordo com a Figura 3.

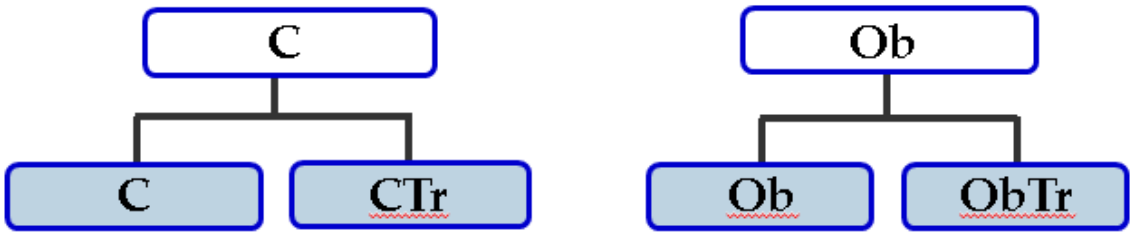

Figura 3. Representação esquemática dos grupos quanto ao tipo de dieta e ausência ou presença de treinamento físico resistido.

2.4 Protocolo de Treinamento Físico Resistido

O TFR foi realizado por meio de aparato em escada adaptada para ratos (Hornberger & Farrar, 2004; Leite et al. 2013). O equipamento de treinamento apresentou a seguinte estrutura: 1,1m altura, 0,18m de largura, com 2,0cm entre os degraus e 80° de inclinação; no ápice da escada havia uma caixa com dimensões de 20cm x 20cm x 20cm (HORNBERGER & FARRAR, 2004). A carga utilizada no treinamento foi fixada ao anzol de pesca e presa por meio de fita adesiva na parte proximal da cauda dos ratos (figura 2). A caracterização da série foi determinada pela subida do animal até o topo da escada.

Os ratos CTr e ObTr passaram por um período de três (3) dias de familiarização ao protocolo de TFR. Após esse período, os animais realizaram o teste de carga máxima (TCM) em outro dia não consecutivo (HORNBERGER & FARRAR, 2004). Foram realizados três TCM durante o período de TFR, sendo: 1) início do protocolo (17ª semana), 2) 5 semanas

após o teste inicial (21ª semana) e 3) final do protocolo de treinamento (26ª semana), conforme Tabela 2. O primeiro TCM iniciou com a realização de uma série pelo animal com 50% do seu peso corporal (PC). A cada série completa realizada, foi acrescentado 30g à carga, até que o animal não fosse capaz de conduzir a mesma até o topo; o intervalo entre cada série foi de 120 segundos. A maior carga conduzida (CC) com sucesso por toda a escada foi considerada a carga máxima (CM), a qual foi utilizada para a prescrição das intensidades do TFR. No 2º e 3º TCM foi utilizada a da última sessão de treinamento para início do teste (50%CM).

Tabela 2. Protocolo de TFR.

Semanas					
0	**Familiarização e Teste de Carga Máxima (CM)**				
	Progressão do Treinamento				
	1ª série	**2ª série**	**3ª série**	**4ªsérie**	**5ª série**
1	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
2	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
3	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
4	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
5	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
	+ TESTE DE CARGA MÁXIMA				
6	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
7	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
8	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
9	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
10	50% da CM	75% da CM	90% da CM	100% da CM	100% da CM+30g
	+ TESTE DE CARGA MÁXIMA				

O TFR foi realizado três vezes por semana, durante 10 semanas. O protocolo consistiu de quatro subidas (séries) de escada com 50%, 75%, 90% e 100% de intensidade da CM pré-estabelecida. Após realizarem as 4 séries, os animais foram submetidos a uma 5ª série com 30g à carga, com o objetivo de acompanhar a evolução da força e ajustar os valores de CM. O intervalo de recuperação entre as séries foi de 60 segundos.

2.5 Eutanásia

Ao fim, os animais permaneceram em jejum por 12 a 15 horas, sendo posteriormente anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip; Dopalen, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip; Anasedan, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e eutanasiados por toracotomia mediana.

2.6 Avaliação do Estado Nutricional

O perfil nutricional foi determinado pela análise do PC, gordura corporal (GC) e índice de adiposidade (IA). O PC dos animais foi aferido semanalmente, utilizando-se balança de precisão digital Edutec (Inca Tecnologia de Produtos e Serviços Ltda, Brasil). A quantidade de GC foi determinada a partir da somatória dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral. O IA foi calculado, dividindo-se a GC pelo peso corporal final (PCF), multiplicado por 100 (ROLLS & SHIDE, 1992; TAYLOR & PHILLIPS, 1996).

2.7 Pressão Arterial

Após o término do protocolo experimental, foram realizadas as análises das-medidas de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC), de maneira indireta, por meio do método de pletismografia de cauda (Insight, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (PFEFFER et al., 1971). Os animais foram acomodados em câmara aquecida, com temperatura média de 37ºC por 15 minutos (MALKOFF, 2005). Após esse período, na região proximal da cauda foi conectado um manguito de borracha com transdutor de pressão de 0 a 300mmHg. Os valores da PAS e PAD foram obtidos por meio dos sinais do transdutor acoplado ao computador e analisados em *software* (INSIGHT® Instrumentos, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Foram realizadas três medidas em cada animal para

obtenção de um registro médio. A pressão arterial média (PAM) foi obtida por meio do seguinte cálculo, PAM: (PAS + 2*PAD)/3, sugerido por Aires (2008).

2.8 Teste de Tolerância à Glicose

O perfil glicêmico *in vivo* foi analisado após sobrecarga de glicose (WOODS et al., 2003). Após um período de jejum de 6 horas, as coletas de sangue na artéria caudal foram realizadas na condição basal e após administração intraperitoneal de solução de glicose 25% (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), equivalente a 2g/kg. As amostras sanguíneas foram coletadas nos momentos 0 (basal) e após 30, 60, 90 e 120 minutos da infusão da glicose. A mensuração dos níveis glicêmicos foi realizada com glicosímetro portátil Accu-Chek Performa Nano Kit (Roche Diagnostic Brazil Ltda, São Paulo, Brasil). A tolerância à glicose nestes animais foi avaliada pela área glicêmica (SAKAGUCHI et al., 2015).

2.9 Análise da Morfologia Cardíaca

A remodelação cardíaca macroscópica *post mortem*, que identifica a presença ou ausência de hipertrofia muscular, foi determinada pela análise dos seguintes parâmetros: peso do coração total, átrio total (AT), ventrículos esquerdo (VE) e direito (VD), e das respectivas relações com o comprimento da tíbia. A tíbia foi dissecada e seu comprimento mensurado com auxílio de paquímetro.

Os corações foram removidos e fixados em solução tampão de formaldeído por 48h, em seguida embebedados em parafina e cortados em micrótomo (Leica Biosystems, RM2235). Os cortes (5 µm de espessura) foram corados com Picrosirius red para determinação do colágeno e com hematoxilina-eosina para determinar a área seccional transversa do miócito. As imagens foram capturadas com uma câmera de vídeo (AxioCam ERc5s, Carl Zeiss, Germany) acoplada a um microscópio óptico (AX70, Olympus

Corporation, Japan) usando uma objetiva 20x e quantificada usando o *software* Image J (National Institutes of Health, Bethesda, USA).

2.10 Determinação do Teor de Água nos Tecidos

A mensuração do teor de água tecidual foi realizada nas amostras de (VE), (VD), (AT), pâncreas, pulmão e fígado. Após a remoção dos tecidos, aferiu-se o peso *in natura*. Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem em estufa em temperatura de 55 ± 5°C por período de 48 horas. A determinação do teor de água foi expressa em valores relativos (%) e calculada pela seguinte fórmula: [(Peso *in natura* – Peso seco)/Peso *in natura*] x 100%.

2.11 Cardiomiócito Isolado

A análise funcional cardíaca *in vitro* foi realizada por meio da técnica de cardiomiócito isolado.

2.11.1 Isolamento do cardiomiócito

A análise do cardiomiócito isolado foi realizada conforme técnica descrita por Guatimosim et al. (2001). Ao final do protocolo experimental, 4 animais (n = 4) de cada grupo experimental foram anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip; Dopalen®, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip; Anasedan®, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil), eutanasiados e submetidos à toracotomia mediana. Os corações foram rapidamente removidos e transferidos para uma placa de petri contendo solução Digestion Buffer (DB) + ácido etileno glicol tetracético (EGTA - *ethyleneglycol-bis (ß-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraaceticacid*) + N-2-hidroxietil piperazina N-2-etano sulfonico (HEPES). A solução DB consistia de solução básica com água ultrapura (milli-Q) e a seguinte

composição (mM): NaCl (130); $MgCl_2$ (1.4); KCl (5,4); N-2-hidroxietil piperazina N-2-etano sulfonico (HEPES) (25); glicose (22); NAH_2PO4 (0,33); pH = 7,39. Após a limpeza do coração, foi realizada a pesagem em um *becker* contendo 20 ml da solução DB + EGTA + HEPES. A artéria aorta foi canulada utilizando-se a técnica de *Langendorff* e o coração perfundido com solução de DB+HEPES+EGTA em fluxo constante para limpeza dos vasos coronários por um período de 2 a 3 minutos. Após a canulação e limpeza, o coração foi perfundido com solução enzimática contendo solução DB, colagenase (21 mg) e Ca^{+2} (1 mM) por 12 a 15 minutos. As soluções utilizadas neste processo foram continuamente aeradas com 95% de O_2 e 5% de CO_2 e mantidas em banho-maria a 37,5°C.

Após a perfusão, os átrios foram retirados e o coração foi cortado em uma placa de petri contendo solução DB + albumina + colagenase + Ca^{+2} (1mM). Os fragmentos do coração (*pellet*) foram ressuspendidos levemente em um becker com pipeta pasteur por 2 minutos em banho maria a 37,5°C. Em seguida, as células foram dissociadas, ressuspendidas e filtradas. Após 10 minutos, o sobrenadante foi removido e o *pellet* lavado a cada 10 minutos, com soluções de DB + albumina + Ca^{+2}. A cada etapa o tubo contendo as células e as soluções foram mantidas em repouso por aproximadamente 10 minutos e o sobrenadante descartado. Nessa etapa, foi adicionado ao *pellet* solução *Tyrode* com a seguinte composição (mM): NaCl (140); HEPES (10); NaH_2PO_4 (0,33); $MgCl_2$ (1); KCl (5); $CaCl_2$ (1,8) e Glicose (10). As soluções utilizadas neste processo foram aquecidas previamente a 37,5ºC.

2.11.2 Contratilidade Miocárdica

A contração celular foi mensurada por meio da técnica de alteração do comprimento dos cardiomiócitos, conforme descrito previamente (GUATIMOSIM et al., 2001). As mensurações de contração-relaxamento celular utilizaram um sistema de detecção de bordas acoplado ao microscópio invertido (IonOptix, Milton, MA, USA) com lente objetiva de 40

vezes (Nikon Eclipse - TS100, EUA). Os cardiomiócitos foram acomodados em câmara experimental com base de vidro, banhados por solução *Tyrode* temperatura de 37,5˚ e visualizados em um monitor por meio de uma câmera (Myocam, IonOptix, Milton, MA, USA, 240 Hz) acoplada ao microscópio com um programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix).

Os cardiomiócitos foram estimulados em frequências de 1, 2 e 3 Hz com duração de 5 milisegundos e voltagem de 20 V, utilizando-se um par de eletrodos de aço e um estimulador elétrico de campo (Myopacer, IonOptix, Milton, MA, USA). Os movimentos das bordas dos miócitos foram capturados pelo sistema de detecção de bordas (Ionwizard, Ion Optix, Milton, MA, USA) e armazenados para análise posterior. As medidas de contração foram realizadas em cardiomiócitos isolados que apresentaram as seguintes condições: bordas e estriações sarcoméricas bem definidas, relaxados em repouso e sem apresentar contrações voluntárias.

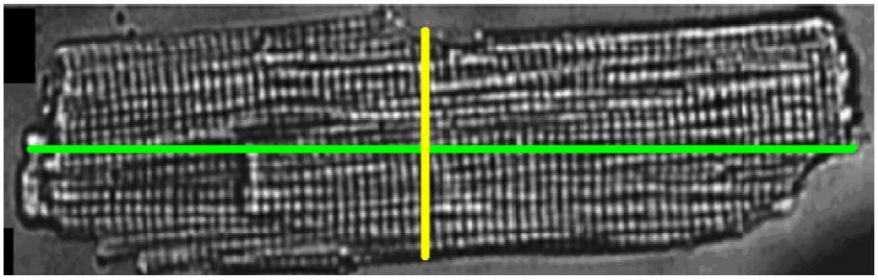

Figura 4. Representação dos pontos de mensuração da imagem dos miócitos cardíacos.

2.11.3 Parâmetros Funcionais Miocárdico

As propriedades contráteis dos cardiomiócitos foram avaliadas utilizando um sistema de aquisição *vídeo-based sarcomere spacing (SarcLen,IonOptix, Milton, MA).* Miócitos quiescentes com a disposição clara das estriações foram escolhidos para as análises contráteis. As células foram colocadas em uma câmara de cultura com sistema próprio de estimulação acoplado ao microscópio invertido (*Nikon TE2000U, Nikon, Melville, NY, EUA*),

eletricamente estimuladas e perfundidas com solução tampão HEPES a temperatura ambiente. As alterações no comprimento dos sarcômeros foram registradas e posteriormente analisadas utilizando *software* específico (*Ion Wizard, IonOptix, Milton, MA, EUA).* Foram avaliados o comprimento dos sarcômeros e os seguintes parâmetros contráteis: percentual de encurtamento (PE – %), velocidades máximas de encurtamento (VME - µm/s) e relaxamento (VMR – µm/s), tempos até 50% do pico de encurtamento (t $encurt_{50\%}$ – ms) e de relaxamento (t $relax_{50\%}$ – ms) (Figura 4).

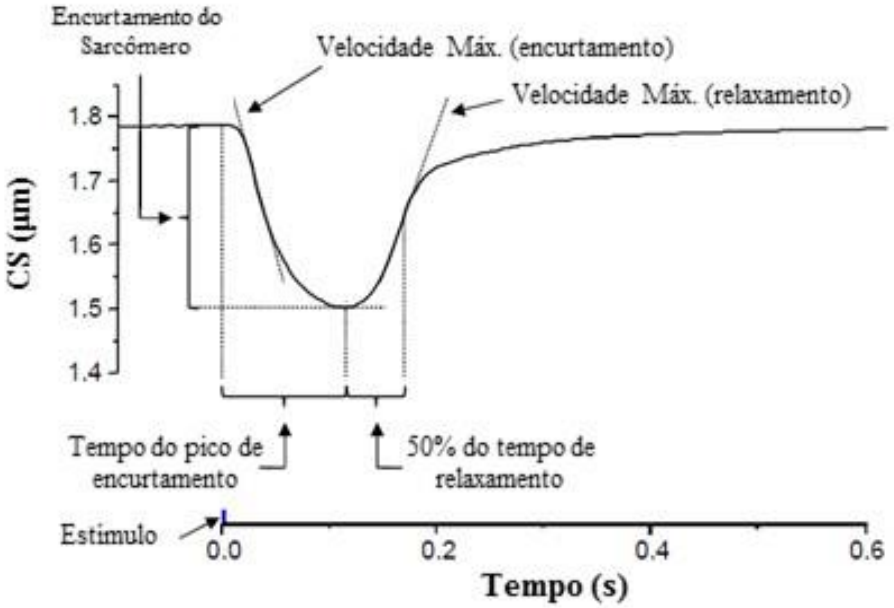

Figura 5. Representação esquemática do encurtamento de um cardiomiócito isolado e dos respectivos parâmetros da contração celular. CS: comprimento do sarcômero.

2.11.4 Análise da Cinética de Ca^{2+} intracelular

Os cardiomiócitos foram incubados com o indicador fluorescente de Ca^{2+} Fura-2 AM (Molecular Probes, Eugene, OR, USA). Para avaliação do trânsito de Ca^{2+} as células foram carregadas com 1 µM Fura-2 AM por 20 min, em temperatura ambiente, e lavadas com solução *Tyrode*. Posteriormente os miócitos foram estimulados a 1, 2 e 3 Hz (Myopacer 100, Ionoptix Inc.) com as seguintes configurações: duração: 2 ms; estimulação contínua pulso

bifásico; voltagem: ajustada a 120% da tensão de limiar que induz as cinéticas de Ca^{2+}. As imagens de fluorescência foram obtidas usando excitação de 340 nm a 380 nm e emissão de intensidade de fluorescência detectada em aproximadamente 510 nm. As seguintes variáveis foram analisadas: Amplitude de Ca^{+2}, Ca^{+2} sistólico, Velocidade de liberação de Ca^{+2}, Velocidade de recaptura de Ca^{+2}, Tempo até o pico de Ca^{+2}, Tempo para 50% do decaimento de Ca^{+2}.

2.12 Análise Estatística

Os dados estão expressos em medidas de posição e variabilidade.

A evolução do peso corporal foi realizada pela análise de variância (ANOVA - duas vias) para amostras independentes no modelo de medidas repetidas, complementada com teste *post hoc* de Bonferroni

Nas comparações entre dois grupos, para resultados gerais após a 16ª semana e a cinética de Ca^{+2} intracelular dos cardiomiócitos isolados, foi realizado teste t de student; quando os dados não apresentaram características normais, foi realizado teste de Mann-Whitney.

Os resultados gerais, as características nutricionais, as comorbidades e as análises macro e microscópicas funcionais após 26 semanas, e as comparações entre os grupos experimentais no teste de carga máxima conduzida (dentro de cada momento; inicial e final), foram submetidas à análise de variância (ANOVA - duas vias) para amostras independentes e complementada com teste *post hoc* de Bonferroni. No teste de carga máxima conduzida, quando comparados os momentos, inicial e final, dentro de cada grupo foi realizado teste t de student. O nível de significância considerado para todas as variáveis foi de 5%.

3. RESULTADOS

A partir dos critérios de exclusão estabelecidos para a composição dos grupos (item 2.3 da seção de Material e Métodos) foram utilizadas as seguintes quantidades de animais: controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=20). Neste sentido foram descartados 13 animais, os quais não se enquadraram nos quesitos proposto pelo estudo, sendo 5 animais do grupo controle, pois adquiriram características dos animas obesos, e 8 animais do grupo obeso que apresentaram resistência ao protocolo de obesidade, não adquirindo assim, as características de animais obesos conforme desejado.

A Figura 6 apresenta a evolução do peso corporal durante o período de indução e manutenção da obesidade (16 semanas). Após a primeira semana de indução à obesidade houve diferença estatística entre os grupos para o peso corporal (C < Ob). Assim, no período de manutenção da obesidade (15 semanas), o qual teve início na segunda semana do protocolo experimental, foi observada diferença significativa entre os grupos para o PC nas próximas 14 semanas consecutivas.

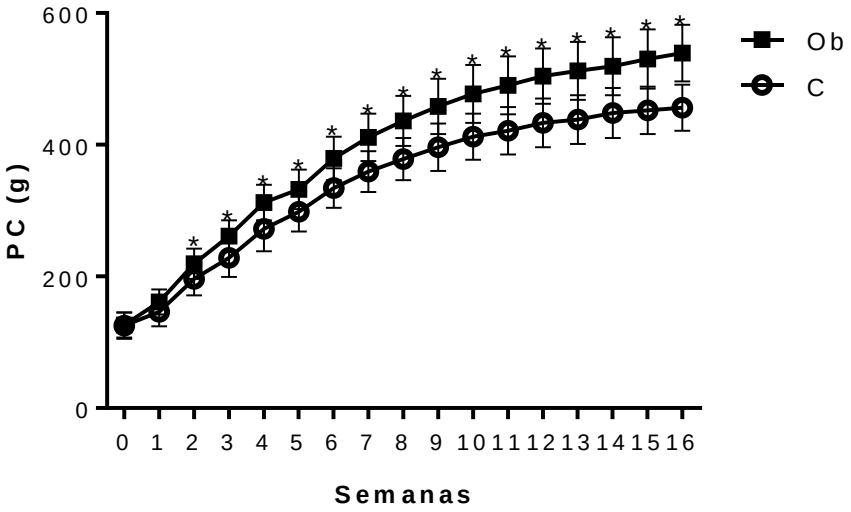

Figura 6. Evolução semanal do peso corporal dos grupos experimentais. controle (C, n=20) e obeso (Ob, n=20). Dados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes e complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. p<0,05, * C *vs* Ob.

Os resultados gerais após o término do período de manutenção da obesidade estão expressos na Tabela 3. O PCF e o ganho de peso corporal do Ob foram significativamente maiores do que o grupo C. O consumo alimentar foi similar entre os grupos C e Ob, no entanto, a ingestão calórica e a eficiência alimentar foram significativamente maiores no grupo Ob.

Tabela 3. Resultados Gerais após 16 semanas

	C (n = 20)	**Ob (n = 20)**
PCI (g)	125 ± 20	126 ± 19
PCF (g)	456 ± 35	539 ± 43*
Ganho de Peso Corporal (g)	331 ± 37	413 ± 42*
CA (g/dia)	22,1 ± 1,8	21,2 ± 2,0
IC (kcal/dia)	65,1 ± 5,3	77,3 ± 7,2*
EA (%)	4,54 ± 0,30	4,78 ± 0,35*

Valores apresentados como média ± DP. controle (C) e obeso (ob); PCI: Peso Corporal Inicial; PCF: Peso Corporal Final; CA: Consumo Alimentar; IC: Ingestão Calórica; EA: Eficiência Alimentar. Teste-t de Student. *$p < 0,05$ *vs* C.

Os resultados mostram que houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos Ob e C e ObTr e CTr, respectivamente, em todas as semanas do protocolo de TFR (Figura 7).

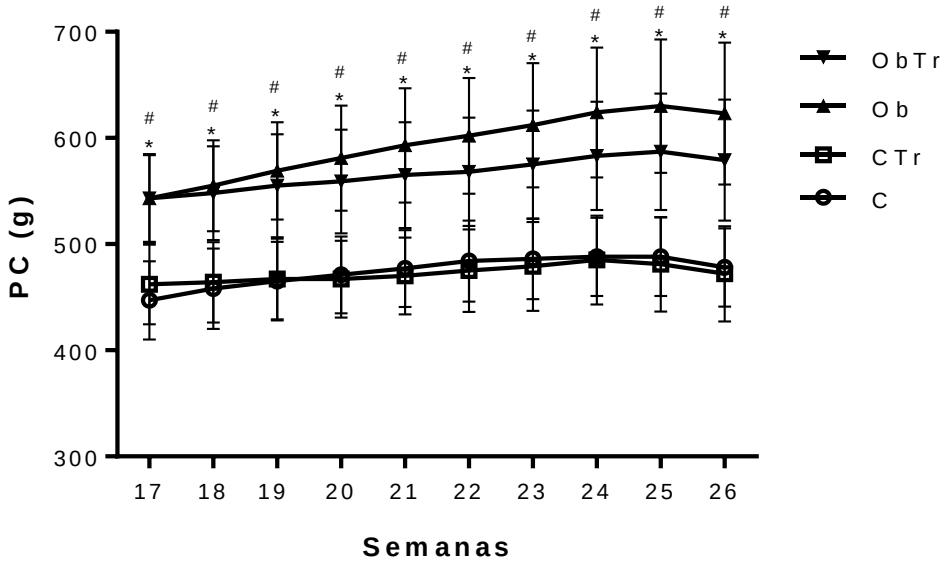

Figura 7. Evolução semanal do peso corporal dos grupos experimentais. controle (C, n=10), obeso (Ob, n=10), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr, n=10), obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr, n= 10). Dados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes e complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. p<0,05, * C *vs* Ob. p < 0,05, # ObTr vs CTr.

A Figura 8 apresenta os valores de carga conduzida no teste de força máxima inicial e final. No momento inicial, todos os grupos foram semelhantes quanto ao valor do teste de carga máxima. Contudo, houve diferença significativa nos grupos CTr e ObTr em relação aos respectivos controles para o teste de carga final (CTr > C; ObTr > Ob). Em relação à comparação dos testes de carga inicial e final dentro do mesmo grupo, observou-se diferença significativa no grupo C, CTr e ObTr (carga final > carga inicial). A carga máxima conduzida ao final do experimento foi similar entre os grupos treinados.

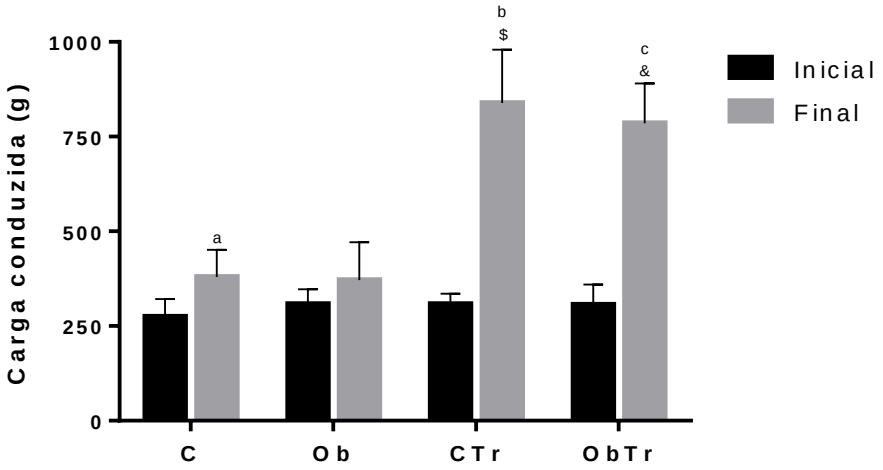

Figura 8. Carga conduzida dos grupos experimentais no teste de carga máxima. Controle (C, n=10), obeso (Ob, n=10), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr, n=10), obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr, n= 10). Dados expressos em média ± desvio padrão. O teste t de student foi realizado para comparar os testes inicial e final dentro de cada grupo. Para comparar os grupos dentro de cada momento foi realizada análise de variância (ANOVA - duas vias) para amostras independentes e complementada com teste *post hoc* de Bonferroni p<0,05, $ CTr *vs.* C; p<0,05, &ObTr *vs.* Ob; Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os momentos inicial e

Os resultados gerais após o término do protocolo de treinamento físico (10 semanas) estão expressos na Tabela 4. Os pesos corporais iniciais (semana 17) e finais do grupo Ob foram significativamente maiores que o grupo C; o mesmo resultado foi visualizado quando comparados os grupos ObTr *vs* CTr. O ganho de peso corporal, durante todo o protocolo experimental, foi significativamente maior nos grupos Ob e Obtr quando comparado aos respectivos controles. Embora não tenha havido diferença estatística para o ganho de peso corporal durante o protocolo de treinamento físico entre o grupo C e CTr, o CTr apresentou menor ganho de peso corporal em relação ao C (p = 0,054). Os depósitos de gordura e a gordura corporal total apresentaram diferença significativa entre os grupos Ob *vs* C (Ob > C) e ObTr *vs* CTr (ObTr > CTr). Além disso, foi observada diferença estatística entre os grupos ObTr e Ob apenas para os depósitos de gordura epididimal e visceral (Ob > ObTr). O índice

de adiposidade (IA) e comprimento nasoanal apresentaram diferença significativa entre os grupos Ob *vs* C (Ob > C) e ObTr *vs* CTr (ObTr > CTr).

Tabela 4. Resultados Gerais (17ª a 26ª semana)

Variáveis	C (n = 10)	Ob (n = 10)	CTr (n = 10)	ObTr (n = 10)
PCI (g)	447 ± 36	543 ± 41*	462 ± 37	543 ± 42$^{\#}$
PCF (g)	478 ± 36	623 ± 67*	472 ± 44	579 ± 57$^{\#}$
Ganho de Peso Corporal (g)	30,8 ± 19,8	79,9 ± 29,7*	9,56 ± 14,5	36,1 ± 28,1$^{\#\&}$
Epididimal (g)	7,39 ± 1,97	14,9 ± 4,8*	6,88 ± 1,08	11,4 ± 3,3$^{\#\&}$
Retroperitonial (g)	12,3 ± 2,6	27,1 ± 7,6*	12,7 ± 1,1	25,3 ± 7,3$^{\#}$
Visceral (g)	8,23 ± 1,51	17,8 ± 6,1*	7,69 ± 0,93	14,17 ± 4,31$^{\#\&}$
GC total (g)	27,8 ± 5,3	59,8 ± 18,1*	27,3 ± 2,22	50,9 ± 14,0$^{\#}$
IA (%)	5,79 ± 0,90	9,45 ± 1,99*	5,83 ± 0,77	8,70 ± 1,79$^{\#}$
Comprimento nasoanal (cm)	26,8 ± 0,8	27,8 ± 0,9*	26,8 ± 0,6	27,7 ± 0,5$^{\#}$

Valores apresentados como média ± DP. controle (C), obeso (Ob), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr), obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr). PCI: Peso Corporal Inicial; PCF: Peso Corporal Final; GC: gordura corporal; IA: índice de adiposidade. ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *$p < 0,05$ - C *vs* Ob; $^{\#}p < 0,05$ - ObTr *vs.* Ctr; $^{\&}p < 0,05$ - ObTr *vs.* Ob.

A Tabela 5 mostra as características nutricionais dos grupos experimentais durante o protocolo de treinamento físico resistido. Não houve diferença significativa no consumo alimentar entre os grupos experimentais durante o período de 10 semanas de TFR. A ingestão calórica foi significativamente maior nos grupos Ob e ObTr em relação aos grupos C e CTr, respectivamente. Além disso, a eficiência alimentar apresentou valores significativamente menores para os grupos C e ObTr em relação ao grupo Ob; o mesmo achado foi visualizado no grupo CTr em relação ao grupo C (CTr < C).

Tabela 5. Características Nutricionais (17ª a 26ª semana)

Variáveis	C (n = 10)	Ob (n = 10)	CTr (n = 10)	ObTr (n = 10)
CA (g/dia)	21,8 ± 2,1	21,7 ± 2,2	21,3 ± 2,5	20,7 ± 2,0
IC (Kcal/dia)	64,2 ± 6,2	79,2 ± 8,0*	62,9 ± 7,5	75,7 ± 7,2$^{\#}$
EA (%)	0,69 ± 0,42	1,41 ± 0,44*	0,20 ± 0,34§	0,65 ± 0,48$^{\#\&}$

Valores apresentados como média ± DP. controle (C), obeso (Ob), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr), obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr). CA: Consumo Alimentar; IC: Ingestão Calórica; EA: Eficiência Alimentar. ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs* Ob; $^{\#}$p < 0,05 - ObTr *vs* Ctr; $^{\&}$p < 0,05 - ObTr *vs* Ob; §p < 0,05 - CTr *vs* C.

A Tabela 6 mostra as características bioquímicas dos grupos experimentais após 26 semanas de protocolo experimental. Nos valores de triglicerídeos sanguíneo foi encontrada diferença estatística entre os grupos Ob e C (Ob > C) e ObTr e Ob (ObTr < Ob). Os valores de colesterol foram encontrados aumentados significativamente nos grupos C em relação ao grupo Ob e no grupo CTr em relação ao grupo ObTr.

Tabela 6. Características Bioquímicas

Variáveis	C (n = 10)	Ob (n = 10)	CTr (n = 10)	ObTr (n = 10)
Glicose (mg/dl)	264 ± 32	311 ± 104	249 ± 63	276 ± 81
TG (mg/dl)	20,8 ± 7,4	30,6 ± 8,4*	17,8 ± 3,9	19,6 ± 9,9$^{\&}$
Colesterol (mg/dl)	66,5 ± 9,0	57 ,1 ± 12,9*	64,0 ± 9,6	57,8 ± 13,0$^{\#}$
HDL (mg/dl)	23,3 ± 3,0	23,2 ± 5,3	24,7 ± 3,1	24,6 ± 4,3

Valores apresentados como média ± DP. controle (C), obeso (Ob), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr), obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr). TG: triglicerídeo; HDL: lipoproteína de alta densidade. ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs* Ob; $^{\#}$p < 0,05 - ObTr *vs* Ctr; $^{\&}$p < 0,05 - ObTr *vs* Ob.

As Figuras 9A e B ilustram os resultados do teste de tolerância à glicose (TTG) e área sobre a curva glicêmica. Não houve diferença significativa entre os grupos no momento basal e após sobrecarga de glicose nos momentos 90’ e 120’; no entanto, nos momentos 30’ e 60’ os grupos Ob e Obtr apresentaram maiores valores glicêmicos em relação aos respectivos

controles, respectivamente (Figura 8A). Em relação à área sobre a curva glicêmica, os resultados mostram que houve diferença significativa entre os grupos Ob *vs* C (Ob > C) e Obtr *vs* CTr (ObTr > CTr).

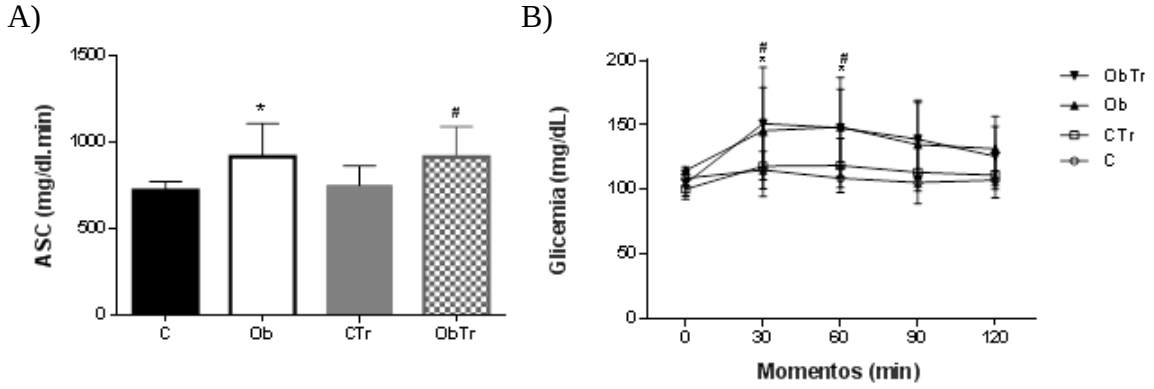

Figura 9. Perfil glicêmico (A) e área sobre a curva glicêmica (B) obtidos no teste de tolerância a glicose. controle (C, n = 5), obeso (Ob, n = 5), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr, n = 5) e obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr, n = 5). Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA two way para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs.* Ob; #p < 0,05 - ObTr *vs.* Ctr.

As Figuras 9A-D mostram os resultados da pressão arterial média, (PAM), sistólica (PAS), diastólica (PAD), e da frequência cardíaca (FC) após 26 semanas de protocolo experimental. Não houve diferença entre os grupos para todas as variáveis analisadas.

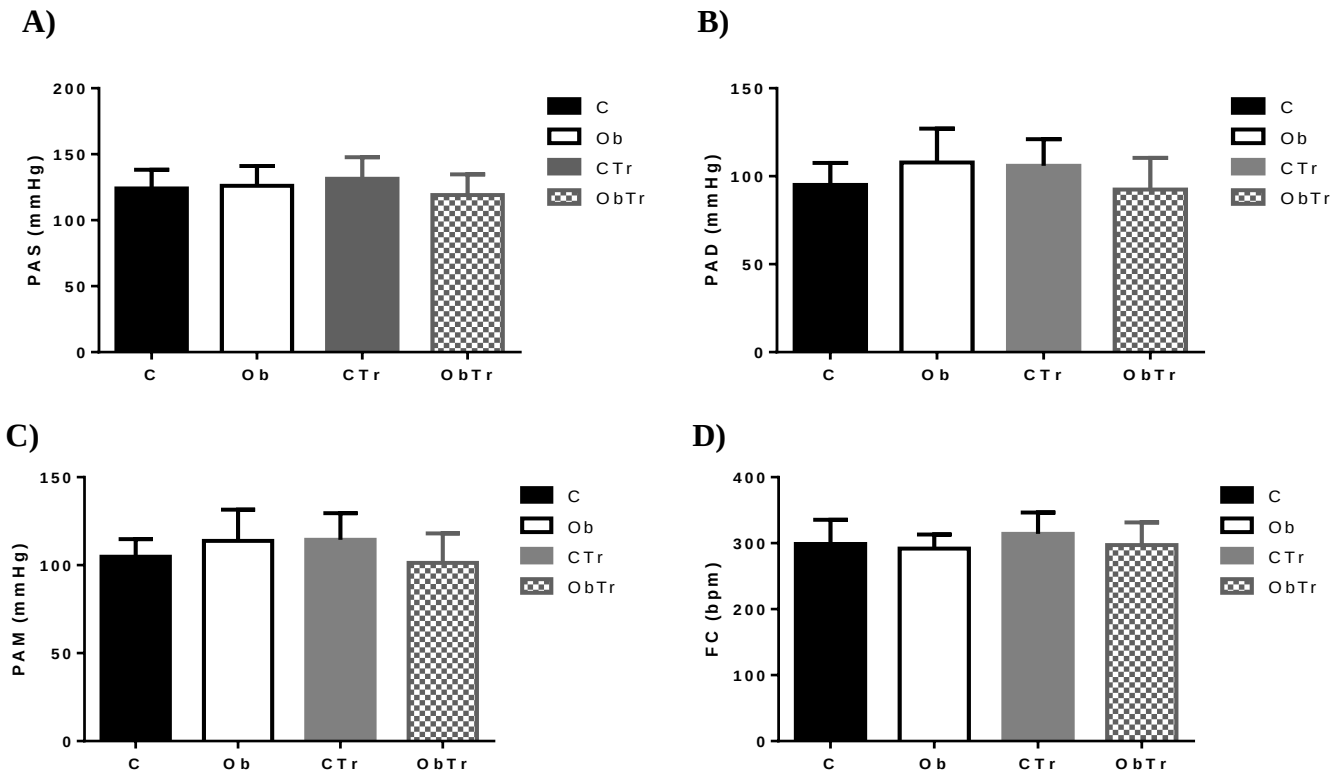

Figura 10. Registros hemodinâmicos dos animais controle (C; n=8), obeso (Ob; n=4), controle treinado (CTr, n = 8) e obeso treinado (ObTr, n = 5) após o protocolo experimental. A) PAS: pressão arterial sistólica; B) PAD: pressão arterial diastólica; C) PAM: pressão arterial média; D) FC: frequência cardíaca. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA two way para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni.

A Tabela 7 apresenta as características morfológicas e o teor de água nos tecidos pulmonar, hepático e pancreático. Os valores de peso do fígado foram significativamente maiores entre os grupos Ob e ObTr em relação aos grupos C e CTr respectivamente. O teor de água no fígado mostra-se significativamente maior nos grupos C e ObTr em relação ao grupo Ob. Há também diferença significativa no teor de água do pâncreas entre os grupos Ob e C (Ob < C).

Tabela 7. Resultados Morfológicos e Percentual de Umidade

Variáveis	C (n = 10)	Ob (n = 10)	CTr (n = 10)	ObTr (n = 10)
Pulmão (g)	1,66 ± 0,14	1,77 ± 0,36	1,74 ± 0,32	1,84 ± 0,16
Fígado (g)	11,4 ± 1,5	16,5 ± 2,8*	11,8 ± 1,7	16,4 ± 2,0#
Pâncreas (g)	0,79 ± 0,20	0,78 ± 0,21	0,72 ± 0,17	0,91 ± 0,15
Pulmão (%)	77,5 ± 1,08	75,5 ± 0,02	77,8 ± 0,02	77,4 ± 0,01
Fígado (%)	68,0 ± 1,21	65,0 ± 0,03*	68,1 ± 0,004	67,8 ± 0,03&
Pâncreas (%)	65,5 ± 3,18	62,2 ± 0,04*	64,8 ± 0,03	63,3 ± 0,04

Valores apresentados como média ± DP. controle (C), obeso (Ob), controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr) e obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr). ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs* Ob; #p < 0,05 - ObTr *vs* Ctr; &p < 0,05 - ObTr *vs* Ob.

A Tabela 8 mostra as características morfológicas cardíacas, sua relação com o comprimento da tíbia e o teor de água do tecido cardíaco. Foi observado apenas diferença estatística para o comprimento da tíbia, sendo maior no grupo ObTr em relação ao grupo CTr.

Tabela 8. Resultados morfológicos cardíacos e teor de água

Variáveis	C (n = 5)	Ob (n = 4)	CTr (n = 4)	ObTr (n = 4)
Coração total (g)	1,13 ± 0,06	1,24 ± 0,15	1,04 ± 0,19	1,23 ± 0,19
VE (g)	0,83 ± 0,03	0,85 ± 0,13	0,74 ± 0,17	0,90 ± 0,13
VD (g)	0,21 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,04
AT (g)	0,10 ± 0,01	0,14 ± 0,07	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,04
Tíbia (cm)	4,30 ± 0,14	4,40 ± 0,10	4,34 ± 0,10	4,44 ± 0,04#
VE/Tíbia (g/cm)	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,20 ± 0,04
VD/Tíbia (g/cm)	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
AT/Tíbia (g/cm)	0,02 ± 0,003	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,01
Coração/Tíbia (g/cm)	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,28 ± 0,05
VE (%)	74,9 ± 1,04	74,4 ± 0,01	75,2 ± 0,01	74,6 ± 0,02
VD (%)	74,5 ± 1,30	74,5 ± 0,02	74,8 ± 0,002	73,4 ± 0,01
AT (%)	75,9 ± 1,23	76,0 ± 0,03	76,0 ± 0,02	73,6 ± 0,03

Valores apresentados média ± DP. controle (C), obeso (Ob), controle treinado (CTr) e obeso treinado (ObTr). VE: Ventrículo Esquerdo; VD: Ventrículo Direito; AT: Átrio. ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs* Ob; &p < 0,05 - ObTr *vs* Ob.

As Figuras 11A-B, 12 e 13 mostram os resultados histológicos após 26 semanas de protocolo experimental. Em relação aos níveis de colágeno miocárdico, os resultados mostram que o grupo Ob apresentou valores significativamente maiores em relação ao C (Figura 10B e 11). Não houve diferença entre os grupos para a área seccional transversa (Figura 10A e 12).

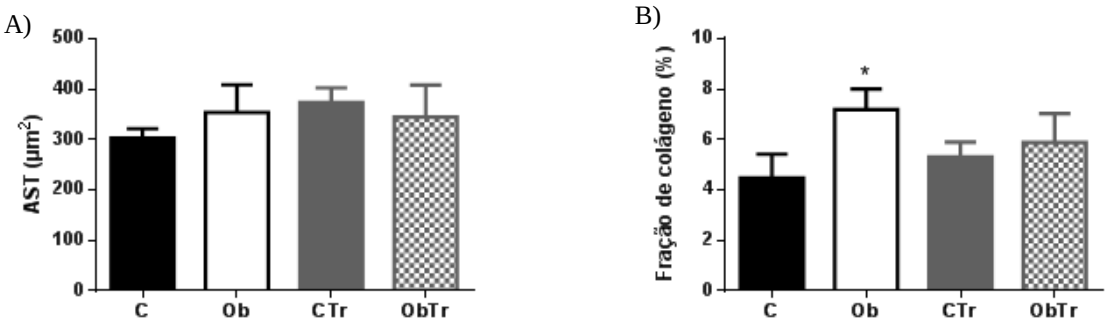

Figura 11. Perfil histológico em fragmentos do VE em animais controle (C; n=8), obeso (Ob; n=4), controle treinado (CTr, n = 8) e obeso treinado (ObTr, n = 5) após o protocolo experimental. A) Fração de colágeno; B) AST: área seccional transversa do miócito. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA two way para amostras independentes, complementada com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *p < 0,05 - C *vs* Ob.

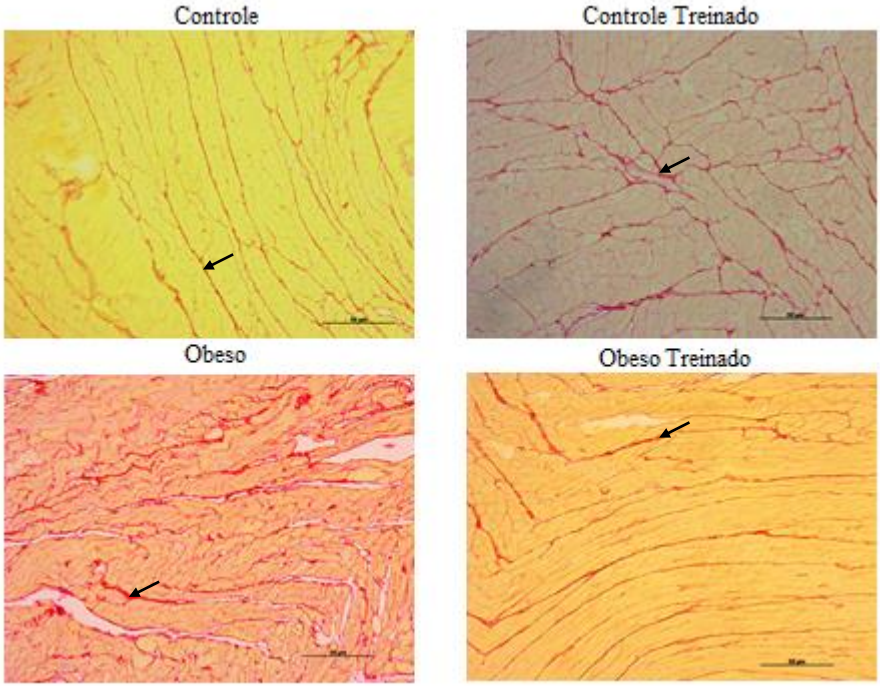

Figura 12. Colágeno subendocárdico do ventrículo esquerdo (VE) Picrosirius *Red* (PSR) 40X.

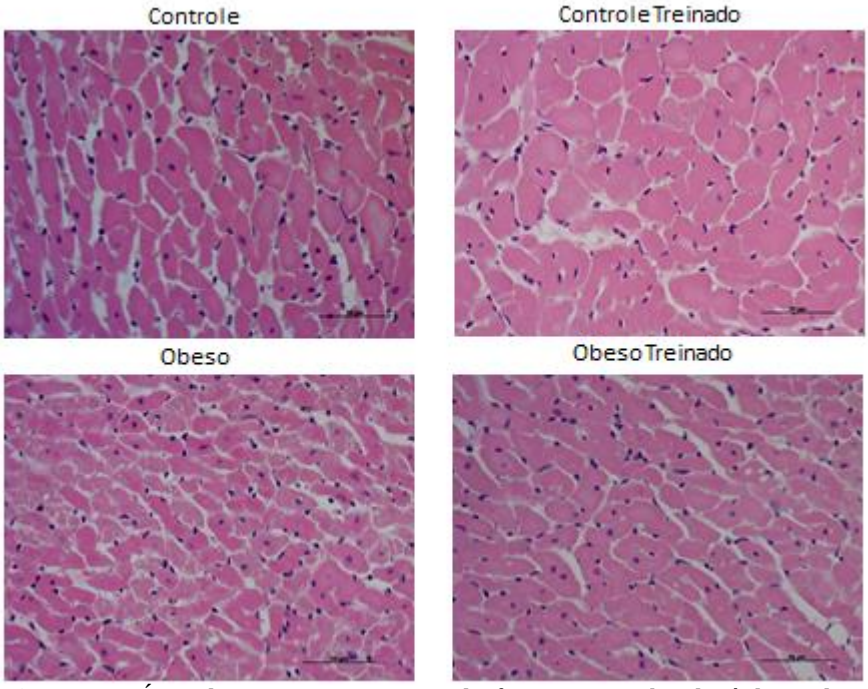

Figura 13. Área de Secção Transversa de fragmentos subendocárdicos do ventrículo esquerdo (VE). Hematoxilina-eosina (HE) 40X.

As Figuras 14 A-F mostram os resultados do comprimento do sarcômero e das variáveis contráteis de cardiomiócitos isolados após estimulação elétrica com 1Hz. Os resultados apresentam diferença significativa no encurtamento (%) dos grupos CTr e ObTr em relação aos respectivos grupos C (CTr > C) e Ob (ObTr > Ob), respectivamente; o mesmo resultado foi visualizado entre grupos treinados (CTr > ObTr) e os sedentários (C > Ob). Em relação às velocidades máximas de encurtamento (VME) e relaxamento (VMR), os grupos CTr e ObTr foram capazes de melhorar este parâmetro em comparação aos respectivos grupos C e Ob (CTr > C; ObTr > Ob). Além disso, foi observado diferença significativa para a VME entre CTr e ObTr (CTr > ObTr). Os resultados também mostram diferença estatística entre os grupos C e Ob (C > Ob) e CTr e C (C > CTr) para o tempo até 50% do relaxamento. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os grupos para o comprimento do sarcômero e tempo até 50% do encurtamento.

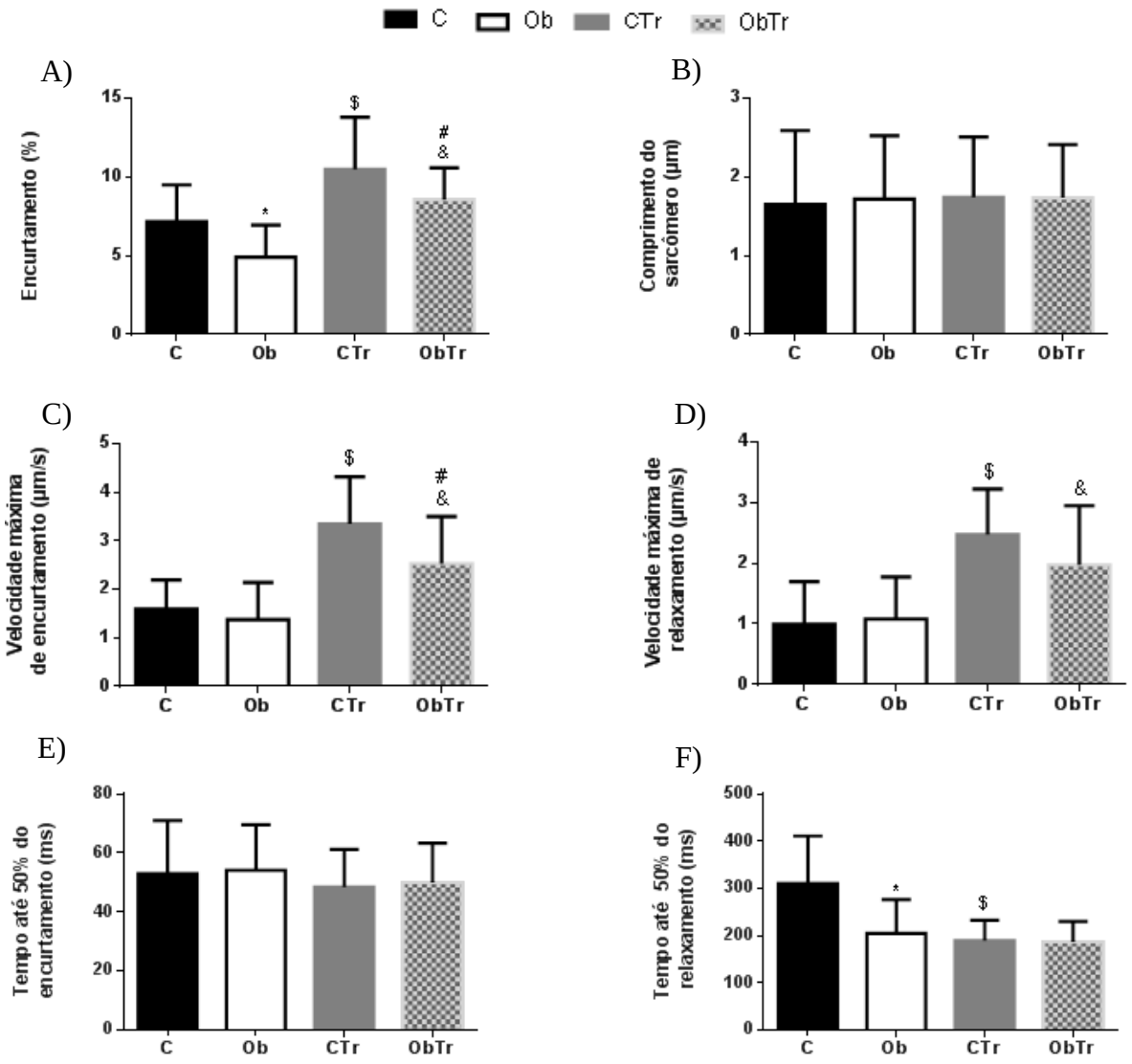

Figura 14. Comprimento do sarcômero e variáveis contráteis de cardiomiócitos isolados.Valores expressos em média ± desvio padrão. Grupos experimentais: Controle (C; n=4, células=7), Obeso (Ob; n=4, células=35), Controle submetido ao treinamento físico resistido (CTr; n= 8, células = 31), Obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr; n= 4, células= 39). Os registros foram obtidos a partir de estimulação elétrica: 1 Hz. ANOVA two way para amostras independentes, complementadas com o teste *post-hoc* de Bonferroni. *$p < 0,05$ - C *vs* Ob; $^{\&}p < 0,05$ - ObTr *vs* Ob; $^{\#}p < 0,05$- CTr *vs* ObTr; $^{\$}p < 0,05$- CTr *vs* C.

As Figuras 15 A-F mostram os parâmetros relacionados à cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica. O TFR foi capaz de melhorar significativamente as velocidades de liberação e recaptura de Ca^{+2}, aumentar Ca^{+2} sistólico e diminuir o tempo até o pico de Ca^{+2}.

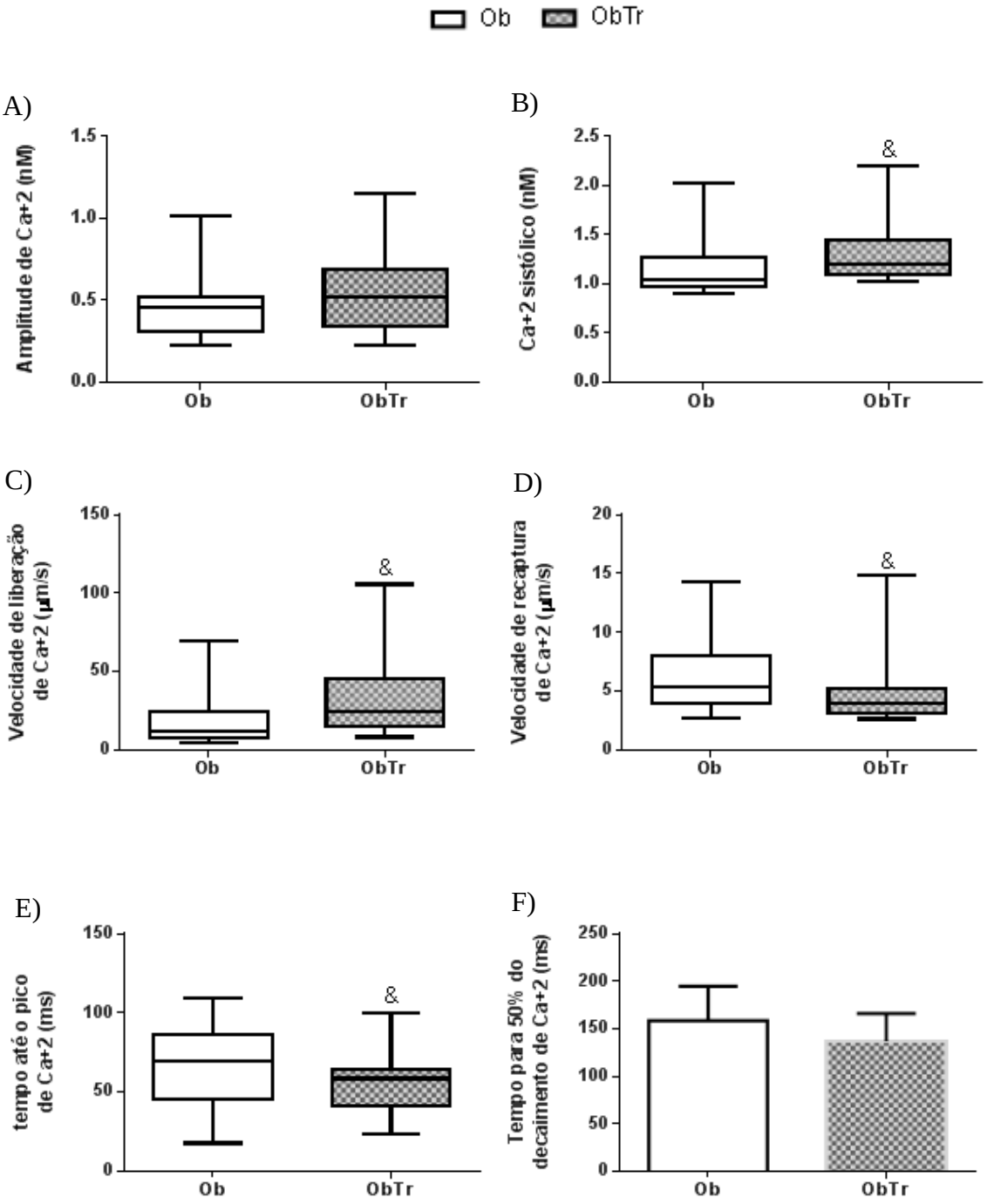

Figura 15. Cinética de Ca^{+2} intracelular de cardiomiócitos isolados. Valores expressos em média ± desvio padrão/ou mediana. Grupos experimentais: Obeso (Ob; n= 4, células= 15), Obeso submetido ao treinamento físico resistido (ObTr; n= 4, células= 15). Os registros foram obtidos a partir de estimulação elétrica: 1 Hz. Teste-t de student. $^{\&}p < 0,05$ - ObTr *vs* Ob.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos de um protocolo de treinamento físico resistido, realizado durante 10 semanas em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica, sobre a função e a cinética de Ca^{2+} intracelular miocárdica. O principal achado do trabalho é que a prevenção da disfunção cardíaca pelo treinamento resistido em ratos obesos está relacionada à melhoria da cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica.

4.1 Protocolo de Treinamento Físico Resistido

O treinamento físico vem sendo a principal ferramenta não farmacológica utilizada para controlar, atenuar ou reverter diversas doenças no sistema orgânico, dentre eles o sistema cardiovascular (GOMES *et al*., 2017; STANFORD *et al*., 2015; RUSSEL *et al*., 2017). O coração se adapta mecânica, elétrica e morfologicamente de acordo com a modalidade e o tempo de prática de treinamento físico (SPERETTA ET AL., 2016; ALVES *et al*.,2014; LEITE et al.,2013; NEA ET AL., 2012). De acordo com a literatura, o treinamento físico resistido tem se mostrado eficiente em alterar a estrutura cardíaca e melhorar a função de corações saudáveis e em condições patológicas, contribuindo para uma maior tolerância ao esforço (SPERETTA ET AL., 2016; ALVES *et al*.,2014; LEITE et al.,2013; NEA ET AL., 2012). Pouco ainda tem se investigado sobre o impacto do treinamento resistido na obesidade, no entanto, pesquisas recentes apresentam que essa modalidade pode reduzir significativamente os depósitos de gordura, controlar a expressão de citocinas pró-inflamatórias, além de produzir mudanças significantes no perfil lipídico (SPERETTA *et al*., 2012; Speretta *et al*., 2016).

Considerando os prejuízos cardíacos provenientes do acúmulo de tecido adiposo excessivo, o treinamento físico resistido tem causado impacto positivo, contribuindo para o controle e reversão do processo morfológico cardíaco na insuficiência cardíaca (Alves *et al*.,

2014). Contudo os efeitos do treinamento físico resistido em outras condições patológicas como a obesidade ainda necessita ser mais investigado.

4.1 Características Gerais

Devido à maior oferta energética e, consequentemente, maior consumo calórico, o peso corporal do grupo Ob foi diferente estatisticamente do grupo C a partir da segunda semana de indução à obesidade, permanecendo diferente durante todo o protocolo experimental. Estes resultados corroboram os achados do nosso grupo que mostram que animais tratados com dieta hiperlipídica ganham peso mais rapidamente do que animais tratados com dieta normocalórica, demonstrando serem significativamente diferentes nas primeiras semanas (FERRON *et al*., 2015; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014), mantendo esse perfil durante diversos períodos de protocolos devido ao maior aporte de calorias. (FERNANDES *et al*., 2017; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2013; CALLIGARIS *et al*., 2013; SPERETTA *et al*., 2012). De acordo com o presente estudo, o treinamento físico não foi capaz de diminuir significativamente o peso corporal dos animais, assim como a ingestão alimentar e o consumo calórico de animais obesos alimentados com dieta hiperlipídica. Esses resultados foram diferentes do encontrados por Speretta *et al*. (2012), que mostraram que o treinamento físico resistido realizado por 8 semanas reduziu significativamente tanto o consumo alimentar quanto o consumo calórico de animais obesos. Alterações na redução de gordura, assim como na ingestão alimentar e calórica podem estar atribuídos aos diversos hormônios reguladores do apetite (LEAN *et al*., 2016). Lean *et al*. (2016) apresentam que o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), peptídeo YY, leptina e a grelina estão entre os principais hormônios reguladores do apetite estudados e sofrem alterações diretas sobre o exercício físico ou balanço calórico negativo, atuando em receptores no estômago, pâncreas e cérebro, regulando o metabolismo.

Haghshenas *et al*. (2014) mostraram que 8 semanas de treinamento aeróbico foram capazes de aumentar significativamente os níveis de Nesfatin-1 e PPY contribuindo para a diminuição do consumo alimentar. A PPY atua no nervo vago e hipotálamo, além de atrasar o esvaziamento gástrico, diminuindo a secreção de insulina (Lean et al, 2016). Contudo, o treinamento aeróbico é mais efetivo que o TFR para melhorar fatores orexígenos e anorexígenos em obesos (CARNIER *et al*., 2013).

De acordo com trabalhos anteriores que utilizaram a mesma dieta (LEOPOLDO *et al*., 2011; LEOPOLDO *et al*., 2010; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2008), o presente estudo apresenta maiores valores para o grupo Ob em relação ao grupo C nos depósitos de gordura epididimal, retroperitonial, visceral, gordura corporal total e índice de adiposidade. O rápido aumento na prevalência da obesidade é devido em parte atribuído a disponibilidade de alimentos palatáveis hipercalóricos, os quais resultam no consumo calórico excessivo em relação à necessidade (JOHNSON, 2017; SPERETTA *et al*., 2012). Grande parte das calorias ingeridas nos alimentos que, não são utilizadas pelo organismo, são armazenadas no tecido adiposo como fonte de reserva energética, contribuindo para a hipertrofia e hiperplasia do adipócito, aumentando ainda mais a capacidade de acumular gordura (GONZÁLEZ-MUNIESA *et al*., 2017; RUTKOWISKI *et al*., 2015; SUN *et al*., 2011).

A literatura tem apresentado que uma variedade de técnicas vem sendo empregadas para ser efetivas combatentes da obesidade (ABIDIN *et al*., 2014). No presente estudo, o protocolo de treinamento físico utilizado foi capaz de diminuir significativamente os depósitos de gordura epididimal e visceral entre os grupos ObTr e Ob. Estes resultados corrobaram os achados de Speretta *et al*. (2012) que observaram que o treinamento físico resistido foi capaz de diminuir a área dos adipócitos visceral, retroperitonial e epididimal, causando um efeito anti-inflamatório demonstrado pela diminuição na expressão de fator de

necrose tumoral-α (TNF-α) Leite *et al*. (2013) mostraram que o treinamento resistido realizado 3 vezes por semana durante 12 semanas foi capaz de reduzir o percentual de gordura e aumentar a massa livre de gordura, fatores determinantes da composição corporal. No entanto, Speretta *et al*. (2016) investigando o treinamento físico resistido iniciado juntamente com consumo de dieta hiperlipídica mostraram que os depósitos de gordura obtiveram valores iguais ao do respectivo grupo sedentário ao final do protocolo experimental, mostrando que o treinamento físico sem acarretar no balanço calórico negativo não previne o acúmulo de tecido adiposo. O TFR promove grande aumento nos níveis de catecolaminas circulantes e assim agindo nos receptores beta no tecido adiposo promovendo lipólise (SPERETTA *et al*., 2012). Ropelle *et al*. (2010) demonstraram que o exercício aumenta a expressão de interleucina-6 e interleucina-10 no hipotálamo, aumentando a sensibilidade à insulina e leptina e culminando na diminuição do consumo alimentar.

No presente estudo o treinamento físico resistido diminuiu significativamente a eficiência alimentar dos animais obesos (capacidade de converter a energia consumida em gordura). Dentro dos adipócitos, o exercício físico age aumentando o conteúdo intracelular da enzima lípase-hormônio-sensível (LHS) e lípase de triglicerídeo adiposo (LTGA) e, consequentemente, aprimorando o mecanismo de lipólise (BAE *et al*., 2017). Giles *et al*. (2016) demonstraram que o exercício físico afeta a expressão gênica no tecido adiposo e inibe em partes a estocagem de lipídios, síntese de triglicerídeos e lipogênese. Além disso, o treinamento físico tem impacto sobre proteínas intracelulares e adipocinas liberadas pelo tecido adiposo e muscular que regulam o balanço energético e estão correlacionados com mudanças na adiposidade (STANFORD *et al*., 2015; BAE *et al*., 2017).

O teste inicial de carga máxima conduzida realizado no aparato de TFR (escada) não apresentou diferença significativa entre os grupos, mostrando que todos estavam em condição de força igual no momento inicial do protocolo de treinamento. No entanto, ao final do

protocolo de TFR (10 semanas) os grupos treinados apresentaram diferença significativa para a carga máxima conduzida em relação aos seus respectivos grupos controle e também uma diferença significativa foi observada entre os testes de carga máxima conduzida inicial e final para os grupos C, CTR e ObTr. Trabalhos recentes têm apresentado que este tipo de treinamento aumenta a força muscular de ratos consequentemente aumentando a carga conduzida durante o protocolo experimental (PHILIPPE *et al*., 2015; GRANS *et al*., 2014; NASCIMENTO *et al*., 2013; SPERETTA *et al*., 2012). Grans *et al*. (2014) apresentaram que o TFR realizado por 12 semanas, 5 dias por semana foi capaz de aumentar a carga conduzida de ambos animais saudáveis e infartados em relação ao seu teste inicial e seus respectivos grupos controle. Em animais obesos, Speretta *et al*. (2012) mostraram que o TFR ao final de 8 semanas foi capaz de aumentar a força, observada pelo aumento significativo na carga conduzida em relação ao grupo obeso sedentário e que este tipo de treinamento pode alterar os efeitos deletérios de animais alimentados por dieta hiperlipídica. Philippe *et al*. (2015) sugerem que esse aumento na força pode estar relacionado a vias de síntese proteica (IGF1 – PI3K – Akt – mTOR) e outras adaptações no músculo esquelético de ratos. Neste sentido, o TFR parece aumentar significativamente a área seccional transversa do tríceps braquial (NASCIMENTO *et al*., 2013).

4.3 Comorbidades

A literatura tem demonstrado que a obesidade é uma doença crônico metabólica que acarreta diversas comorbidades, entre elas, a diabetes, hipertensão e dislipidemia (NAJAFIPOUR *et al*., 2016; NELSON, 2013; VENKATESAN *et al*., 2013). No presente estudo, a obesidade não promoveu hipertensão arterial, no entanto, acarretou aumento significativo nos níveis de triglicerídeos e intolerância à glicose representada pela elevação da área sob a curva em relação ao grupo C, além disso, apresentou níveis significativamente

menores de colesterol. De acordo com trabalhos anteriores do nosso grupo, a obesidade promove dislipidemia associado tanto ao aumento de triglicerídeos como à diminuição do HDL e resistência à ação da insulina (FERRON *et al*., 2015; LEOPOLDO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011; LEOPOLDO *et al*., 2010). Dados controversos foram apresentados por Zaman *et al*. (2011) mostrando que ratos *Wistar* tratados com dieta hiperlipídica por 10 semanas não apresentaram aumento significativo nos níveis de triglicerídeos plasmáticos em comparação ao grupo controle.

A aumentada taxa de lipídios sanguíneos é um fator de risco conhecido para doenças cardiovasculares (NAJAFIPOUR *et al*., 2016; NELSON, 2013). Diante desse contexto, a análise da pressão arterial por meio método de pletismografia de cauda mostrou que ratos *Wistar* obesos alimentados com dieta hiperlipídica por 15 semanas desenvolveram hipertensão arterial demonstrada pelo valor significativamente maior na pressão arterial sistólica em relação ao grupo controle (Leopoldo *et al*., 2010). Porém, vários estudos foram ineficazes em encontrar essa associação (FERRON *et al*., 2015; NASCIMENTO *et al*., 2011; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011; LEOPOLDO *et al*., 2011). Além disso, Nascimento *et al*. (2011) sugerem que a via do óxido nítrico (NO)/L-arginine é melhorada em vasos de ratos obesos. A aumentada biodisponibilidade de NO em ratos alimentados com dieta hiperlipídica representam um mecanismo adaptativo para proteger o vaso contra os efeitos deletérios ocasionados pela dieta com alto valor energético sobre a reatividade vascular (NASCIMENTO *et al*., 2011).

Em relação à intolerância a glicose, estudos tem mostrado que a obesidade pode causar resistência à ação da insulina, dificultando a entrada de glicose nos tecidos e, consequentemente, mantendo os seus níveis aumentados por mais tempo na corrente sanguínea (Ulla *et al*., 2017; LEOPOLDO *et al*.,2010). Ulla *et al*. (2017) observaram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica por 56 dias apresentaram intolerância à glicose

avaliado pelo teste de tolerância a glicose oral. A hipertrigliceridemia participa no desenvolvimento de aterosclerose e hipertensão no humano (KAPRINAY *et al*., 2016).

No presente estudo o TFR nos animais obesos não provocou alteração na pressão arterial, porém, foi capaz de diminuir significativamente os níveis de triglicerídeos plasmáticos comparado com o seu respectivo grupo controle. Além disso, o grupo ObTr apresentou valores inferiores e superiores ao grupo CTr para a concentração de colesterol plasmática e área sob a curva da glicose, respectivamente. Estudos têm mostrado que o treinamento físico reverte co-morbidades e melhora parâmetros metabólicos associados à obesidade em ratos (SPERETTA *et al*., 2016; LEITE *et al*., 2013; SPERETTA *et al*., 2012). Speretta *et al*., (2016) mostraram que o TFR preveniu as alterações no perfil lipídico em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Mostarda *et al*. (2012) apresentaram que resistência a insulina e pressão arterial sistólica e diastólica foram mantidas à valores normais pelo treinamento físico em animais tratados com dieta rica em frutose. No entanto, Sertié *et al*. (2015) identificaram que 10 semanas de treinamento aeróbico realizado 5 dias por semana em ratos *Wistar* obesos foi ineficaz em alterar os níveis de triglicerídeos e colesterol plasmáticos. Em relação à intolerância a glicose, Caponi *et al*. (2013) mostraram correlação positiva entre o exercício físico e a expressão de GLUT 4 no músculo esquelético e coração, mostrando que o treinamento físico melhora a sensibilidade à insulina e apresenta efeitos benéficos sobre a síndrome metabólica.

4.4 Remodelação Cardíaca

Diversos estudos têm demonstrado que a obesidade causa remodelação cardíaca patológica (TAPP *et al*., 2014; MAHAJAN *et al*., 2014; ASHFARIAN *et al*., 2011; LEOPOLDO *et al*., 2010). No presente estudo os animais Ob apresentaram fração de colágeno aumentado em relação ao seu respectivo grupo controle, porém sem diferença

significativa na área seccional transversa (AST). Estes resultados corroboram com os achados por Leopoldo *et al*. (2010) que mostraram que a obesidade acarretou aumento da fração de colágeno intersticial miocárdica sem aumentar a AST do miócito. Dados controversos são apresentados por Lima-leopoldo *et al*. (2014) onde a obesidade induzida por dieta hiperlipídica ocasionou aumento da AST do miócito sem alteração na fração de colágeno miocárdica. Leite *et al*. (2013) mostraram que a obesidade promoveu aumento da massa do ventrículo esquerdo e impactou a atividade das metaloproteinases-2 (MMP-2). Em modelos de ovinos a obesidade acarretou em aumento da fibrose intersticial atrial e aumento da massa miocárdica com o progressivo ganho de peso (MAHAJAN *et al*., 2014).

A obesidade e o sobrepeso promovem aumento na sobrecarga hemodinâmica, ativação neuro-humoral e secreção de adipocinas pró-inflamatórias (GONÇALVES *et al*, 2016; MAHAJAN *et al*, 2014). A inflamação dos adipócitos desencadeia a liberação de diversas citocinas inflamatórias como TNF-α, interleucina 6, proteína-C reativa entre outras que desencadeiam fatores de crescimento pró-fibróticos (GONÇALVES *et al*., 2016; FERNANDES *et al*., 2011). Somado a isto, mudanças hemodinâmicas podem regular os níveis de RNAm de colágeno através da ativação de fator de crescimento transformante- β1 (TGF-β1) (Leite *et al*., 2013). Pesquisas crescentes vêm também demonstrando papel importante do sistema renina-angiotensina no acometimento de hipertrofia cardíaca patológica (FERNANDES *et al*., 2011; PERRINO *et al*., 2006). Fernandes *et al*. (2011) ressaltaram que o nível aumentado de angiotensina 2 desencadeia fibrose cardíaca via indução de proliferação de fibroblastos e deposição de colágeno.

O presente estudo mostrou que o treinamento físico resistido realizado por 10 semanas não acarretou aumento na AST e não foi eficiente em restaurar a fração de colágeno miocárdico ao nível normal. Alves *et al.* (2014) mostraram que o este tipo de treinamento reverteu o aumento de colágeno em ratos *Wistar* induzidos à insuficiência cardíaca.

Interessantemente, Leite *et al*. (2013) mostraram que o treinamento físico resistido promove aumento na pró-metaloproteinases 2 e metaloproteinases 2 intermediárias do ventrículo esquerdo ambos em animais saudáveis e obesos, sugerindo que essa mudança acarreta melhora da remodelação cardíaca. Corroborando com o último trabalho citado, De Souza *et al*. (2014) apresentam que este tipo de treinamento conduz à um aumento na área do miócito e conteúdo de colágeno miocárdico em ratos *Wistar* saudáveis. Os autores afirmam que o TFR aumenta a pressão intraventricular, a qual é necessária para acarretar a abertura da válvula aórtica, levando a um maior estresse na parede do miocárdio e, consequentemente, estimulando a hipertrofia cardíaca.

Há na literatura a discussão a respeito do por que alguns estresses cardíacos são patológicos e outros fisiológicos (FERNANDES *et al*., 2011; MELO *et al*., 2011; Perrino *et al*., 2006). Segundo Lerchenmüller e Rosenzweig (2014) a diferença entre os dois tipos de estresses é que a sobrecarga hemodinâmica induzida pelo exercício é intermitente levando a uma leve hipertrofia, enquanto a hipertrofia patológica é ocasionada por sobrercarga hemodinâmica constante e conduz a rarefação capilar. Perrino *et al*. (2006) demonstraram que a duração do stress cardíaco é responsável pela magnitude da hipertrofia cardíaca e a natureza da sobrecarga determina o fenótipo patológico ou fisiológico. Enquanto a sobrecarga intermitente resulta em hipertrofia cardíaca leve, função cardíaca global preservada e ausência de expressão de genes fetais, a sobrecarga crônica leva a uma elevada expressão de genes fetais levando a um fenótipo anormal (Perrino *et al*., 2006). Vias de sinalização são reguladas pelo exercício físico e regulam mecanismos de transcrição e tradução no cardiomiócito (Vega *et al*., 2017; Boström *et al*., 2010). Boström *et al*. (2010) utilizando um método chamado *Quanttrx* revelaram a ativação de uma grande quantidade de proteínas pós-transcricionais que são responsáveis pela hipertrofia fisiológica e demonstraram que a redução na expressão de C/EBPβ aumenta a atividade de CITED4 e é ocasionada pelo exercício físico, sendo dessa

forma crucial para o crescimento cardíaco fisiológico e divisão celular em cardiomiócitos protegendo contra a remodelação cardíaca patológica.

Pesquisas demonstram que a hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico resistido é localmente regulada e independente (FERNANDES *et al*., 2011; MELO *et al*., 2011). Barauna *et al*. (2008) verificaram que o TFR aumenta a expressão do receptor AT1 no coração independente do aumento de angiotensina 2, e que o bloqueio do receptor AT1 no coração previne a hipertrofia do ventrículo esquerdo induzida pelo TFR, mostrando que a ativação desse receptor é crucial para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca induzida por esse tipo de exercício. Zhai *et al*. (2006) mostraram que há uma via induzida por alogamento mecânico que ativa o receptor AT1 no coração e desencadeia uma cascata de sinalização hipertrófica via Akt e fator de crescimento epidermal (EFGR). A atividade aumentada da Akt é acompanhada por aumento na atividade da *mammalian target of rapamycin* (mTOR), sugerindo a ativação AT1-Akt-mTOR como um potencial mecanismo de hipertrofia cardíaca pelo TFR (FERNANDES *et al*., 2011; MELO *et al*., 2011; BARAUNA *et al*., 2008). A ausência de hipertrofia cardíaca no presente estudo pode ser explicada pelo volume total de TFR. Leite *et al*. (2013) utilizaram 12 semanas de protocolo de TFR e encontraram diferenças significativas na relação peso cardíaco/peso corporal nos grupos treinados em relação aos respectivos grupo controle. De Souza *et al*. (2014) utilizaram um protocolo de TFR de 8 semanas, porém o treinamento era realizado todos os dias. Segundo Cassilhas *et al*. (2013) alguns efeitos adaptativos não são vistos com diferentes volumes de treinamento.

4.4 Função Cardíaca e Transiente de Cálcio

Os resultados mostram que a obesidade acarretou prejuízo da função cardíaca demonstrado pela diminuição significativa no percentual de encurtamento e aumento no tempo até 50% do relaxamento no grupo Ob em relação ao grupo C. Este resultado é

suportado por outros trabalhos mostrando que a obesidade acarreta disfunção cardíaca (AROMOLARAN e BOUTJDIR, 2017; CARVAJAL *et al*., 2014; EBONG *et al*., 2014; SACK, 2013; LEOPOLDO *et al*., 2010).

O coração no indivíduo obeso geralmente trabalha cronicamente em condições de sobrecarga hemodinâmica, exigindo ao máximo de mecanismos como o de Frank-Starling para manter o aporte sanguíneo necessário para o corpo (EBONG *et al*., 2014; SACK, 2013). O maior estresse imposto sobre a parede do ventrículo esquerdo é ocasionado pela resistência vascular periférica e espessamento aórtico (EBONG *et al*, 2014; LEOPOLDO *et al*., 2010). Leopoldo *et al*. (2010) mostraram que o músculo cardíaco de ratos *Wistar* obesos estão significativamente mais tensionados em repouso comparado ao seu grupo controle. Esse achado pode explicar em partes o comprometimento da função cardíaca visualizada pelo prejuízo no dos animais obesos.

O estresse imposto cronicamente leva a um desequilíbrio funcional cardíaco oriundo, principalmente, de anormalidades nas proteínas responsáveis pela cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica, coordenadores centrais do processo de contração e relaxamento (AROMOLARAN e BOUTJDIR, 2017; CARVAJAL *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2011). Carvajal *et al*. (2014) mostraram que alterações na função sistólica podem ser devido a uma menor fosforilação do RyR2 e/ou menor expressão de canais de cálcio do tipo L, diminuindo a liberação de Ca^{+2} para dentro do meio citosólico e, consequentemente, a amplitude do transiente de Ca^{+2}. Dentro desse contexto, Leopoldo *et al*. (2011) mostraram que a atividade do canal de Ca^{+2} tipo L é diminuída no miocárdio de animais obesos em relação aos animais controle quando inibidos com diltiazem, sugerindo que a disfunção miocárdica causada pela obesidade é relacionado ao prejuízo na atividade dos canais de Ca^{+2} do tipo L. Na disfunção diastólica, entre as principais proteínas envolvidas estão SERCA2a e PLB, ambas responsáveis pela remoção de Ca^{+2} citosólico

(AROMOLARAN e BOUTJDIR, 2017; CARVAJAL *et al*., 2014; LIMA-LEOPOLDO *et al*., 2014). Lima-leopoldo *et al*. (2014) identificaram disfunção diastólica em animais obesos devido a redução na fosforilação da PLB na Ser^{16}.

De acordo com o presente estudo, o TFR foi capaz de melhorar a cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica de animais obesos alimentados com dieta hiperlipídica. A literatura têm amplamente investigado os benefícios do treinamento físico aeróbio sobre a função cardíaca e proteínas relacionas a cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica tanto em condições saudáveis e patológicas (LOCATELLI *et al*., 2014; SUGIZAKI *et al*., 2011; PAULINO *et al*., 2010; WISLOFF, 2007). Paulino *et al*. (2010) observaram que o treinamento físico aeróbico preveniu a diminuição no encurtamento ventricular e fosforilação da PLB no retículo sarcoplasmático. No entanto, o efeito do TFR sobre a cinética de Ca^{+2} e proteínas intracelulares miocárdicas associadas têm sido pobremente investigado. Corroborando o resultado do presente estudo, Melo *et al*. (2015) observaram que o TFR em animais saudáveis foi capaz de melhorar os parâmetros contráteis de contração e relaxamento miocárdico, os quais foram relacionados à elevação da expressão proteica de Serca2a e diminuição da expressão do miRNA-214. Os miRNAs estão envolvidos em processos biológicos de doença cardiovascular e a regulação deles pelo treinamento físico pode contribuir para a melhora da função miocárdica (MELO *et al*., 2015).

Não foram encontrados na literatura trabalhos que investigaram a expressão de proteínas e/ou cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica de ratos obesos submetidos ao TFR. Porém, as melhoras encontradas no presente estudo podem estar relacionados a maior expressão e/ou atividade de Serca2a e fosforilação da PLB, uma vez que estas proteínas parecem serem bem sensíveis em se adaptar a diversos tipos de estresse (DANTAS *et al*., 2016; CARVAJAL *et al*., 2014). Dantas *et al*. (2016) encontraram expressão aumentada de Serca2a no ventrículo esquerdo de ratos submetidos ao TFR e sugerem que essa elevação

reverte anormalidades cardíacas contráteis. A melhora na capacidade de recaptura de Ca^{+2} pelo retículo sarcoplasmático parece ser um importante mecanismo para aprimorar as reservas inotrópicas relacionadas à aumentada expressão de Serca2a (DANTAS *et al*., 2016). A obesidade tem efeito direto e indireto sobre a lesão miocárdica ocasionado pelo aumento de espécies reativas de oxigênio, comprometendo o processo celular metabólico, a função de proteínas contráteis e consequentemente prejudicando a contratilidade (CARVAJAL *et al*., 2014). No entanto, Dantas *et al*. (2016) mostraram que uma grande quantidade de proteínas antioxidantes são super expressadas com o TFR e que essas proteínas protegem o organismo contra efeitos deletérios no coração.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, o treinamento resistido foi capaz de prevenir a disfunção cardíaca de ratos obesos decorrente de melhora na cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica.

6 . REFERÊNCIAS

1. ABIDIN, N. Z.; MAMAT, M.; DANGERFIELD, B. Combating obesity through healthy eating behavior: A call for system dynamics optimization. **Plos One**, v. 9, n. 12, p. 1–17, 2014.

2. AHMADIASL, N.; NAJAFIPOUR, H.; SOUFI, F.G.; JAFARI, A. Effect of short- and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **Journal of Physiology and Biochemistry**, Pamplona,v. 68, n. 1, p. 121–128, mar. 2012.

3. ALVES, J.P.; NUNES, R.B.; STEFANI, G.P.; DAL LAGO, P. Resistance training improves hemodynamic function, collagen deposition and inflammatory profiles: experimental model of heart failure. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 10, 2014.

4. AROMOLARAN, A. S.; BOUTJDIR, M. Cardiac Ion Channel Regulation in Obesity and the Metabolic Syndrome : Relevance to Long QT Syndrome and Atrial Fibrillation. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. June, p. 1–17, 2017.

5. ASHRAFIAN, H.; ATHANASIOU, T.; ROUX, C. W. LE. Heart remodelling and obesity: the complexities and variation of cardiac geometry. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 97, n. 3, p. 171–2, 2011.

6. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para

Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Disponível em: http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/72/553a243c4b9f3.pdf. Acesso em: 29 de Jun. 2015.

7. BAE, J. Y.; WOO, J.; ROH, H.T.; LEE, Y.H.; KO, K.; KANG, S.; SHIN, K.O. The effects of detraining and training on adipose tissue lipid droplet in obese mice after chronic high-fat diet. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 13, p. 1–7, 2017.

8. BARAUNA, V. G.; MAGALHAES, F. C.; KRIEGER, J; E.; OLIVEIRA, E. M. AT 1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,** v. 295, n. 2, p. 381-387, 2008.

9. BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 19 Sup. 1:S181-S191, jul. 2003.

10. BENEVENGA NJ, CALVERT C, ECKHERT CD, FAHEY GC, GREGER JL, KEEN CL, KNAPKA JJ, MAGALHAES H, OFTEDAL OT, REEVES PG, SHAW HA, SMITH JE, STEELE RD. 1995. **Nutrient Requirements of the Laboratory Rat.** Washington, DC: National Academy Press.

11. BERNARDIS, L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology.** v. 40, n. 4, p. 527-8, 1968.

12. BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, London, v. 415, n. 6868, p.198-205, 2002.

13. BOSTROM, P., MANN, N., WU, J., QUINTERO, P. A., PLOVIE, E. R., PANÁKOVÁ, D. R., GUPTA, R.K., XIAO, C., MACRAE, C.A., ROSENZWEIG, A., SPIEGELMAN, B. M. C/EBPβ controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. **Atherosclerosis Supplements**, v. 12, n. 1, p. 11, 2011.

14. CALLIGARIS, S. D.; LECANDA, M.; SOLIS, F.; EZQUER, M.; GUTIERREZ, J.; BRANDAN, E.; LEIVA, A.; SOBREVIA, L.; CONGET, P. Mice Long-Term High-Fat Diet Feeding Recapitulates Human Cardiovascular Alterations: An Animal Model to Study the Early Phases of Diabetic Cardiomyopathy. **Plos One**, v. 8, n. 4, p. 1–10, 2013.

15. CAPONI, P. W., LEHNEN, A. M., PINTO, G. H., BORGES, J., MARKOSKI, M., MACHADO, U. F., & SCHAAN, B. D. A. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. **Clinics**, v. 68, n. 7, p. 1010-1017, 2013.

16. CARNIER, J., DE MELLO, M. T., ACKEL-ḎELIA, C., CORGOSINHO, F. C., DA SILVEIRA CAMPOS, R. M., DE LIMA SANCHES, P., MASQUIO, D.C.L., JÚNIOR, C.R.B., GANEN, A.P., MARTINS, A.C., CARANTI, D. A., TOCK, L., CLEMENTE A.P.G., TUFIK, S., DÂMASO, A.R. Aerobic training (AT) is more effective than aerobic plus resistance training (AT+ RT) to improve

anorexigenic/orexigenic factors in obese adolescents. **Appetite**, v. 69, p. 168-173, 2013.

17. CARROLL, J.F.; ZENEBE, W.J.; STRANGE, T.B. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, Dallas, v. 48, n. 1, p. 65-72, 2006.

18. CARVAJAL, K.; BALDERAS-VILLALOBOS, J.; BELLO-SANCHEZ, M.D.; PHILLIPS-FARFÁN, B.; MOLINA-MUNOZ, T.;ALDANA-QUINTERO, H.; GÓMEZ-VIQUEZ, N. L.Ca2+ mishandling and cardiac dysfunction in obesity and insulin resistance: Role of oxidative stress. **Cell Calcium**, Amsterdam, v. 56, n. 5, p. 408-15, 2014.

19. CASSILHAS, R. C., REIS, I. T., VENÂNCIO, D., FERNANDES, J., TUFIK, S., & MELLO, M. T. D. Animal model for progressive resistance exercise: a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 19, n. 1, p. 178-184, 2013.

20. DANG, M.N.; HASHEM, B.E. The Epidemiology of Obesity. **Gastroenterology clinics of North America**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p. 1-7, 2010.

21. DANTAS, P. S., SAKATA, M. M., PEREZ, J. D., WATANABE, R. L. H., BIZERRA, F. C., GUZZONI, V., MARCONDES, F.K., CASARINI, D.E., CUNHA, T. S. Unraveling the role of high-intensity resistance training on left ventricle proteome: Is there a shift towards maladaptation?. **Life sciences**, v. 152, p. 156-164, 2016.

22. DE SOUZA, M.R.; PIMENTA, L.; PITHON-CURI, T.C.; BUCCI, M.; FONTINELE, R.G.; DE SOUZA, R.R. Effects of aerobic training, resistance training, or combined resistance-aerobic training on the left ventricular myocardium in a rat model. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 77, n. 9, p.727-34, 2014.

23. DE TOMASI, L.C.; BRUNO. A.; SUGIZAKI, M.M.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; NASCIMENTO, A.F.; JÚNIOR, S.A.; PINOTTI, M.F.; PADOVANI, C.R.; LEOPOLDO, A.S.; CICOGNA, A.C. Food restriction promotes downregulation of myocardial L-type Ca^{2+} channels. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 87, n. 6, p. 426-31, 2009.

24. DIFFEE G.M. Adaptation of cardiac myocyte contractile properties to exercise training. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, New York, v. 32, n. 3, p. 112–9, 2004.

25. DONG, F.; ZHANG, X.; YANG, X.; ESBERG, L.B.; YANG, H.; ZHANG, Z.; CULVER, B.; REN, J. Impaired cardiac contractile function in ventricular myocytes from leptin-deficient ob/ob obese mice. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 188, n. 1, p.25-36, 2006.

26. DOURMASHKIN, J.T.; CHANG, G.Q.; GAYLES, E.C.; HILL, J.O.; FRIED, S.K.; JULIEN, C.; LEIBOWITZ, S.F. Different forms of obesity as a function of diet composition. **International Journal of Obesity**, London, v. 29, n. 11, p. 1368-78, 2005.

27. EBONG, I. A., GOFF, D. C., RODRIGUEZ, C. J., CHEN, H., & BERTONI, A. G. Mechanisms of heart failure in obesity. **Obesity research & clinical practice**, v. 8, n. 6, p. e540-e548, 2014.

28. ECKEL, R.H.; BAROUCH,W.W.; ERSHOW A.G. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on the pathophysiology of obesity-associated cardiovascular disease. **Circulation**, Dallas, v. 105, n. 24, p. 2923-8, 2002.

29. FABIATTO, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. **American Journalof Physiology**, Bethesda, v. 245, n. 1, p. 1-14, 1983.

30. Fernandes, C. R.; Kannen, V.; Mata, K. M.; Frajacomo, F. T.; Junior, A. A. J.; Gasparotto, B.; SAKITA, J.Y.; JUNIOR, J.E.; LEONARDI, D.S.; MAUAD, F.M.; RAMOS, S.G.; UYEMURA, S.A.; GARCIA, S.B. High-Fat and Fat-Enriched Diets Impair the Benefits of Moderate Physical Training in the Aorta and the Heart in Rats. **Frontier in Nutrition,** v. 4, n. May, p. 1–10, 2017.

31. FERNANDES, T.; SOCI, U.P.; OLIVEIRA, E.M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 44, n. 7, p. 836-47, 2011.

32. FERRON, A.J.; JACOBSEN, B.B.; SANT'ANA, P.G.; DE CAMPOS, D.H.; DE TOMASI L.C.; LUVIZOTTO, R. DE A.; CICOGNA, A.C.; LEOPOLDO, A.S.;

LIMA-LEOPOLDO, A.P. Cardiac Dysfunction Induced by Obesity is Not Related to B-Adrenergic System Impairment at the Receptor-Signalling Pathway. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-18, 2015.

33. FLEPISI, T.B.; LOCHNER, A.; HUISAMEN, B. The Consequences of Long-Term Glycogen Synthase Kinase-3 Inhibition on Normal and Insulin Resistant Rat Hearts. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, Norwel, v. 27, n. 5, p. 381-92, 2013.

34. FONTAINE, K.R.; REDDEN, D.T.; WANG C.; WESTFALL, A.O.; ALLISON, D.B. Years of life lost due to obesity. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 289, n. 2, p.187-93, 2003.

35. FRANCISCHI, R.P.P.; PEREIRA, L.O.; FREITAS, C.S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, P.; LANCHA JÚNIOR, A.H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p.17-28, 2000.

36. GERDES, A. M.; LIU, Z.; ZIMMER, H. G. Changes in nuclear size of cardiac myocytes during the development and progression of hypertrophy in rats. **Cardiosciences**, v. 5, s.n., p. 203–208, 1994.

37. GHORAYEB, N.; BATLOUNI, M.; PINTO, I.M.F.; DIOGUARDI, G.S. Hipertrofia Ventricular Esquerda do Atleta. Resposta Adaptativa Fisiológica do Coração. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, São Paulo, v. 85, n. 3, p.191-7, 2005.

38. GIELEN, S.; SCHULER, G.; ADAMS, V. Cardiovascular Effects of Exercise Training: Molecular Mechanisms. **Circulation**, Dallas, v. 122, p. 1221-1238, 2010.

39. GILES, E. D. *et al.* Exercise Decreases Lipogenic Gene Expression in Adipose Tissue and Alters Adipocyte Cellularity during Weight Regain After Weight Loss. v. 7, n. February, p. 1–12, 2016.

40. GOMES, J. L. P., FERNANDES, T., SOCI, U. P. R., SILVEIRA, A. C., BARRETTI, D. L. M., NEGRÃO, C. E., OLIVEIRA, E. M. Obesity Downregulates MicroRNA-126 Inducing Capillary Rarefaction in Skeletal Muscle: Effects of Aerobic Exercise Training. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

41. GONÇALVES, N., SILVA, A. F., RODRIGUES, P. G., CORREIA, E., MOURA, C., ELOY, C., RONCON-ALBUQUERQUE JR, R., FALCÃO-PIRES, I., LEITEMOREIRA, A. F. Early cardiac changes induced by a hypercaloric Western-type diet in “subclinical” obesity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 310, n. 6, p. H655-H666, 2016.

42. GONZÁLEZ-MUNIESA, P., MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M., HU, F. B., DESPRÉS, J., MATSUZAWA, Y., LOOS, R. J. F., MORENO, L. A., BRAY G. A., MARTINEZ, J. A. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 17034, 2017.

43. GRANS, C.F.; FERIANI, D.J.; ABSSAMRA, M.E.; ROCHA, L.Y.; CARROZZI, N.M.; MOSTARDA, C.; FIGUEROA, D.M.; ANGELIS, K.D.; IRIGOYEN, M.C.;

RODRIGUES, B. Resistance training after myocardial infarction in rats: its role on cardiac and autonomic function. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 103, n. 1, p. 60-8, 2014.

44. GROSSMAN, W.; JONES, D.; MCLAURIN, L.P. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. **The Journal of clinical investigation**, New Haven, v. 56, n. 1, p. 56-64, 1975.

45. GUATIMOSIM, S., SOBIE, E. A., DOS SANTOS CRUZ, J., MARTIN, L. A., & LEDERER, W. J. Molecular identification of a TTX-sensitive Ca 2+ current. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 280, n. 5, p. C1327-C1339, 2001.

46. HAGHSHENAS, R., JAFARI, M., RAVASI, A., KORDI, M., GILANI, N., SHARIATZADEH, M., HEDAYATI, M., RAHIMI, M. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 17, n. 4, p. 237, 2014.

47. HALL, J.E.; DO CARMO, J.M.; DA SILVA, A.A.; WANG, Z.; HALL, M.E. Obesity-Induced Hypertension: Interaction of Neurohumoral and Renal Mechanisms. **Circulation research**, Baltimore, v. 116, n. 6, p.991-1006, 2015.

48. HU, F.B.; WILLETT, W.C.; LI, T.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ G.A.; MANSON J.E. Adiposity as Compared with Physical Activity in Predicting Mortality among

Women. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 351, n. 26, p.2694-703, 2004.

49. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Disponível em: <http://saladeimprensa.ibge.gov.br/pt/noticias?view=noticia&id=1&idnoticia=1699&busca=1&t=pof-20082009-desnutricao-cai-peso-criancas-brasileiras-ultrapassa-padrao internacional>. Acesso em: 15 Jul. 2013.

50. JOHNSON, A. W. Characterizing ingestive behavior through licking microstructure: Underlying neurobiology and its use in the study of obesity in animal models. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 2017.

51. JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis**. 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2007.

52. KEMI, O.J.; ELLINGSEN, O.; CECI, M.;GRIMALDI, S.; SMITH, G.L.; CONDORELLI, G.; WISLØFF, U. Aerobic interval training enhances cardiomyocyte contractility and Ca^{+2} cycling by phosphorylation of CaMKII and Thr-17 of phospholamban. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, London, v. 43, n. 3, p. 354-61, 2007.

53. KUMAR, D.S.; BANJI, D.; HARANI, A. Physiological Factor in Obesity. **American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences**, Dubai, v. 2, n. 3, p.177-189, 2010.

54. LEAN, M. E. J.; MALKOVA, D. Altered gut and adipose tissue hormones in overweight and obese individuals: cause or consequence? **International Journal of Obesity**, v. 40, n. 4, p. 622 - 632, 2016.

55. LEITE, R.D.; DURIGAN, R.D.E.C.; DE SOUZA LINO, A.D.; DE SOUZA CAMPOS, M.V.; SOUZA, M.D.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H.S.; BOUSKELA, E.; KRAEMER-AGUIAR, L.G. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. **Metabolism**, Philadelphia, v. 62, n. 10, p. 1477-84, 2013.

56. LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; SUGIZAKI, M.M.; DO NASCIMENTO, A.F.; DE CAMPOS, D.H.; LUVIZOTTO, R. A.; CASTARDELI, E.; ALVES, C.A.; BRUM, P.C.; CICOGNA, A.C. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2A in myocardial dysfunction induced by obesity. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 226, n. 11, p. 2934-2942, 2011.

57. LEOPOLDO, A.S.; SUGIZAKI, M.M.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; DO NASCIMENTO, A.F.; LUVIZOTTO, R.A.; DE CAMPOS, D.H.; OKOSHI, K., DAL PAI-SILVA, M.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. **Canadian Journal of Cardiology,** Oakville, v. 26, n. 8, p.423-429, 2010.

58. LERCHENMÜLLER, C., ROSENZWEIG, A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 7, p. 1003-1009, 2014.

59. LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S.; DA SILVA, D.C.; DO NASCIMENTO, A.F.; DE CAMPOS, D.H.; LUVIZOTTO, R.A.; DE DEUS, A.F.; FREIRE, P.P.; MEDEIROS, A.; OKOSHI, K.; CICOGNA, A.C. Long-term obesity promotes alterations in diastolic function induced by reduction of phospholamban phosphorylation at serine-16 without affecting calcium handling. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, v. 117, n. 6, p. 669-78, 2014.

60. LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S.; SILVA, D.C.;NASCIMENTO, A.F.; CAMPOS, D.H.; LUVIZOTTO, R. DE A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S.A.; PADOVANI, C.R.; NOGUEIRA, C.R.; CICOGNA, A.C. Influence of Long-Term Obesity on Myocardial Gene Expression. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 100, n. 3, p. 229-37, 2013.

61. LIMA-LEOPOLDO, A.P.; LEOPOLDO, A.S.; SUGIZAKI, M.M.; BRUNO A.; NASCIMENTO, A.F.; LUVIZOTTO, R.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S.A.; CASTARDELI, E.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 97, n. 3, p. 232-240, 2011.

62. LIMA-LEOPOLDO, A.P; SUGIZAKI, M.M.; LEOPOLDO, A.S.; CARVALHO, R.F.; NOGUEIRA, C.R.; NASCIMENTO, A.F.; MARTINEZ, P.F.; LUVIZOTTO, R.A.; PADOVANI, C.R.; CICOGNA, A.C. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca^{+2} handling. **Brazillian Journal of Medicine and Biology Research**, v. 41, n.7, p. 615-620, 2008.

63. LIMA, N.E.A.; LOPES, I.Z.; ERVILHA, U.F.; CURY, J.C.S.; ORNELAS,E.; MAIFRINO, L.B.M. Influence of resistance training in left ventricle of ovariectomized elderly rats. **Journal of Morphological Science**, Temuco, v. 29, n. 4, p. 256-261, 2012.

64. LIN, Y.C.; HUANG, J.; KAN, H.; CASTRANOVA, V.; FRISBEE, J.C.; YU, H.G. Defective calcium inactivation causes long QT in obese insulin-resistant rat. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 302, n. 4, p. 1013-22, 2012.

65. LOCATELLI, J.; ASSIS, L. V. M.; ISOLDI, M. C. Calcium handling proteins: structure, function and modulation by exercise. **Heart Failure Reviews**, Norwell, v. 19, n. 2, p. 207-25, 2014.

66. MAHAJAN, R.; LAU, D.H.; SANDERS, P. Impact of obesity on cardiac metabolism, fibrosis, and function. **Trends in Cardiovascular Medicine**, New York, v. 25, n. 2, p. 119-26, 2015.

67. MATSUBARA, L.S.; MATSUBARA, B.B.; OKOSHI, M.P.; CICOGNA, A.C.; JANICKI, J.S. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. **American Journal of Physiology: Heart Circulatory Physiology**, Bethesda, v. 279, n. 4, p. 1534-9, 2000.

68. MEDEIROS, C.; FREDERICO, M.J.; DA LUZ, G.; PAULI, J.R.; SILVA, A.S.; PINHO, R.A.; VELLOSO, L.A.; ROPELLE, E.R.; DE SOUZA, C.T. Exercise

training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 226, n. 3, p. 666-74, 2011.

69. MELO, S.F.S.; BARAUNA, V.G.; JÚNIOR, M.A.C.; BOZI, L.H.M.; DRUMMOND, L.R.; NATALI, A.J.; DE OLIVEIRA,E.M. Resistance Training Regulates Cardiac Function through Modulation of miRNA-214. **International journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 4, p.6855-67, 2015.

70. MOSTARDA, C.T.; RODRIGUES, B.; DE MORAES, O.A.; MORAES-SILVA, I.C.; ARRUDA, P.B.O.; CARDOSO, R.; SCAPINI, K.B.; DOS SANTOS, F.; DE ANGELIS, K.; IRIGOYEN, M.C. Low intensity resistance training improves systolic function and cardiovascular autonomic control in diabetic rats. **Journal of Diabetes and its complications**, New York, v. 28, n. 3, p. 273-8, 2014.

71. MOSTARDA, C., MORAES-SILVA, I. C., SALEMI, V. M. C., MACHI, J. F., RODRIGUES, B., DE ANGELIS, K., FARAH, V.M.A., IRIGOYEN, M. C. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. **Clinics**, v. 67, n. 7, p. 815-820, 2012.

72. NAJAFIPOUR, H., SHOKOOHI, M., YOUSEFZADEH, G., AZIMZADEH, B. S., KASHANIAN, G. M., BAGHERI, M. M., & MIRZAZADEH, A. Prevalence of dyslipidemia and its association with other coronary artery disease risk factors among urban population in Southeast of Iran: results of the Kerman coronary artery disease

risk factors study (KERCADRS). **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v. 15, n. 1, p. 49, 2016.

73. NASCIMENTO, T. B., BAPTISTA, R. D. F. F., PEREIRA, P. C., CAMPOS, D. H. S., LEOPOLDO, A. S., LEOPOLDO, A. P. L., JÚNIOR, S.A.O., PADOVANI, C.R., CICOGNA, A.C., CORDELLINI, S. Vascular alterations in high-fat diet-obese rats: role of endothelial L-arginine/NO pathway. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 97, n. 1, p. 40-45, 2011.

74. NASCIMENTO, V., KRAUSE NETO, W., GONÇALVES, L., MAIFRINO, L. B. M., SOUZA, R. R., GAMA, E. F. Morphoquantitative analysis revealed Triceps Brachialis muscle hypertrophy by specific Resistance training equipment in rats. **J Morphol Sci**, v. 30, n. 4, p. 276-80, 2013.

75. NATALI, A.J. Efeitos do exercício crônico sobre os miócitos cardíacos: uma revisão das adaptações mecânicas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Taguatinga,v. 12, n. 1, p. 91-6, 2004.

76. NELSON, R. H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 40, n. 1, p. 195-211, 2013.

77. NGUYEN, D.M.; EL-SERAG, H.B. The Epidemiology of Obesity. **Gastroenterology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p.1-7, 2010.

78. NOWAKOWSKI, S.G.; KOLWICZ, S.C.; KORTE, F.S.; LUO, Z.; ROBINSON-HAMM, J.N.; PAGE, J.L.; BROZOVICH, F.; WEISS, R.S.; TIAN, R.; MURRY, C.E.; REGNIER, M. Transgenic over expression of ribonucleotide reductase improves cardiac performance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** Washington, v. 110, n. 15, p. 6187-92, 2013.

79. OLIVEIRA, R.S.; FERREIRA, J.C.; GOMES, E.R.; PAIXÃO, N.A.; ROLIM, N.P.; MEDEIROS, A.; GUATIMOSIM, S.; BRUM, P.C. Cardiac anti-remodelling effect of aerobic training is associated with a reduction in the calcineurin/NFAT signalling pathway in heart failure mice. **The Journal of Physiology**, London, v. 587, n. 15, p. 3899-910, 2009.

80. ONO, K.; MASUYAMA, T.; YAMAMOTO, K.; DOI, R.; SAKATA, Y.; NISHIKAWA, N.; et al. Echodoppler assessment of left ventricular function in rats with hypertensive hypertrophy. **Journal of the American Society of Echocardiography**. v. 15, n. 2, p. 109 – 117, 2002.

81. OPIE, L.H. **Myocardial contraction and relaxation**. In: Opie LH. Heart Physiology: From Cell to Circulation. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; p.209-31, 1998.

82. PARDO SILVA, M.C.; DE LAET, C.; NUSSELDER, W.J.; MAMUN, A.A.; PEETERS, A. Adult obesity and number of years lived with and without cardiovascular disease. **Obesity**, Silver Spring, v. 14, n. 7, p. 1264-73, 2006.

83. PAULINO, E.C.; FERREIRA, J.C.B.; BECHARA, L.R.; TSUTSUI, J.M.; MATHIAS, W.Jr.; LIMA, F.B.; CASARINI, D.E.; CICOGNA, A.C.; BRUM, P.C.; NEGRÃO,C.E. Exercise Training and Caloric Restriction Prevent Reduction in Cardiac Ca^{2+}-Handling Protein Profile in Obese Rats. **Hypertension**, Dallas, v. 56, n. 4, p.629-35, 2010.

84. PERRINO, C., PRASAD, S. V. N., MAO, L., NOMA, T., YAN, Z., KIM, H. S., SMITHIES, O., ROCKMAN, H. A. Intermittent pressure overload triggers hypertrophy-independent cardiac dysfunction and vascular rarefaction. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 6, p. 1547, 2006.

85. PHILIPPE, A. G., PY, G., FAVIER, F. B., SANCHEZ, A. M. J., BONNIEU, A., BUSSO, T., CANDAU, R. Modeling the responses to resistance training in an animal experiment study. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

86. QIN, F.; SIWIK, D.A.; LUPTAK, I.; HOU, X.; WANG, L.; HIGUCHI, A.; WEISBROD, R.M.; OUCHI, N.; TU, V.H.; CALAMARAS, T.D.; MILLER, E.J.; VERBEUREN, T.J.; WALSH, K.; COHEN, R.A.; COLUCCI, W.S. The Polyphenols Resveratrol and S17834 prevent the Structural and Functional Sequelae of Diet-Induced Metabolic Heart Disease in Mice. **Circulation**, Dallas, v. 125, n. 14, p.1757-64, 2012.

87. RACETTE, S.B.; DEUSINGER, S.S.; DEUSINGER, R.H.Obesity: Overview of Prevalence, Etiology, and Treatment. **Physical Therapy**, Alexandria, v. 83, n. 3, p. 276-88, 2003.

88. RELLING, D.P.; ESBERG, L.B.; FANG, C.X.; JOHNSON, W.T. ; MURPHY, E.J.; CARLSON, E.C.; SAARI, J.T. ; REN, J. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. **Journal of Hypertension**, London, v. 24, n. 3, p. 549-561, 2006.

89. REN, J.; WALSH, M.F.; JEFFERSON, L.; NATAVIO, M.; ILG, K.J.; SOWERS, J.R.; BROWN, R.A. Basal and ethanol-induced cardiac contractile response in lean and obese zucker rat hearts. **Journal of Biomedical Science,** London, v. 7, n. 5, p. 390-400, 2000.

90. REN, J.; ZHU, B.H.; RELLING, D.P.; ESBERG, L.B.; CEYLAN-ISIK, A.F. High-fat diet-induced obesity leads to resistance to leptin-induced cardiomyocyte contractile response. **Obesity**, Malden, v. 16, n. 11, p. 2417-2423, 2008.

91. ROBERTS, D.L.; DIVE, C.; RENEHAN, A.G. Biological Mechanisms Linking Obesity and Cancer Risk: New Perspectives. **Annual Review of Medicine**, Palo Alto, v. 61, p. 301-16, 2010.

92. ROLLS, B. J.; SHIDE D. J. The influence of dietary fat on food intake and body weight.

93. Ropelle, E. R., Flores, M. B., Cintra, D. E., Rocha, G. Z., Pauli, J. R., Morari, J., Souza, C.T., Moraes, J.C., Prada, P.O., Guadagnini, D., Marin, R. M., Oliveira, A.G.,

Augusto, T.M., Carvalho, H.F., Velloso, L.A., Saad, M.J.A., Carvalheira, J.B.C. IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKKβ and ER stress inhibition. **PLoS biology**, v. 8, n. 8, p. e1000465, 2010.

94. RUSSELL, R. D., HU, D., GREENAWAY, T., BLACKWOOD, S. J., DWYER, R. M., SHARMAN, J. E., JONES, G., SQUIBB, K. A., BROWN, A. A., OTAHAL, P., BOMAN, M., AL-AUBAIDY, H., PREMILOVAC, D., ROBERTS, C. K., HITCHINS, S., RICHARDS, S. M., RATTIGAN, S., KESKE, M. A. Skeletal Muscle Microvascular-Linked Improvements in Glycemic Control From Resistance Training in Individuals With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, 2017.

95. RUTKOWSKI, J. M., STERN, J. H., SCHERER, P. E. The cell biology of fat expansion. **The Journal of Cell Biology**, v. 208, n. 5, p. 501-512, 2015.

96. SACK, M. N. Obesity and cardiac function–the role of caloric excess and its reversal. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, v. 10, n. 1, p. e41-e46, 2013.

97. SERTIÉ, R. A. L., PAULINO, E. C., BRUM, P. C., ANDREOTTI, S., LIMA, F. B., & NEGRÃO, C. E. Exercise Training and Caloric Restriction Reduce Adiposity Index and Hepatic Lipids in Obese Rats. **Immunoendocrinology**, v. 2, 2015.

98. SJAASTAD, I.; SEJERSTED, O. M.; ILEBEKK, A.; BJORNERHEIM, R. Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats. **Journal of Applied Physiology**. v. 89, n. 4, p. 1445-54, 2000.

99. SOLTANI, Z.; WASHCO, V.; MORSE, S.; REISIN, E. The Impacts of Obesity on the Cardiovascular and Renal Systems: Cascade of Events and Therapeutic Approaches. **Current Hypertension Reports**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 7, 2015.

100. SPERETTA, G. F., SILVA, A. A., VENDRAMINI, R. C., ZANESCO, A., DELBIN, M. A., MENANI, J. V., BASSIA, M., COLOMBARIA E., COLOMBARI, D. S. A. Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. **Life Sciences**, v. 146, p. 154-162, 2016.

101. SPERETTA, G. F. F., ROSANTE, M. C., DUARTE, F. O., LEITE, R. D., LINO, A. D. S., ANDRE, R. A., SILVESTRE, J. G. O., ARAUJO, H. S. S., DUARTEI A. C. G. O. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**, v. 67, n. 12, p. 1469-1477, 2012.

102. STANFORD, K. I., MIDDELBEEK, R. J, W., GOODYEAR, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: beiging and metabolic adaptations. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2361-2368, 2015.

103. STEINBERG, G.R.; SMITH, A.C.; WORMALD, S.; MALEFANT, P.; COLLIER, C.; DYCK, D.J. Endurance training partially reverses dietary induced leptin resistance in

rodent skeletal muscle. **American Journal Physiology: Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, V. 286, n. 1, p.57-63. 2004.

104. STENKAMP-STRAHM, C.M.; NYAVOR, Y.E.A.; KAPPMEYER, A.J.; HORTON. S.; GERICKE, M.; BALEMBA, O.B. Prolonged high fat diet ingestion, obesity, and type 2 diabetes symptoms correlate with phenotypic plasticity in myentericneurons and nerve damage in the mouse duodenum. **Cell and Tissue Research**, Berlin, Special Edition, 2015.

105. SUGIZAKI, M. M., LEOPOLDO, A. P. L., CONDE, J. S., CAMPOS, D. S., DAMATO, R., LEOPOLDO, A. S., NASCIMENTO, A. F., OLIVEIRA JÚNIOR, S. DE A., CICOGNA, A. C. Exercício e restrição alimentar aumentam o RNAm de proteínas do trânsito de Ca2+ miocárdico em ratos. **Arq Bras Cardiol**, v. 97, n. 1, p. 46-52, 2011.

106. SUN, K., KUSMINSKI, C. M., SCHERER, P. E. Adipose tissue remodeling and obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 6, p. 2094, 2011.

107. TAPP, R.J.; VENN, A.; HUYNH, Q.L.; RAITAKARI, O.T.; UKOUMUNNE, O.C.; DWYER, T.; MAGNUSSEN, C.G. Impact of adiposity on cardiac structure in adult life: the childhood determinants of adult health (CDAH) study. **BMC Cardiovascular Disorders**, London, v. 14, n. 79, 2014.

108. TANAKA, N.; DALTON, N.; MAO, L.; ROCKMAN, H. A.; PETERSON, K. L.; GOTTSHALL, K. R. et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. **Circulation**, v. 94, n.5, p. 1109-17, 1996.

109. TAYLOR, B.A.; PHILLIPS, S.J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, San Diego, v. 34, n. 3, p. 389-98, 1996.

110. VEGA, R. B., KONHILAS, J. P., KELLY, D. P., & LEINWAND, L. A. Molecular Mechanisms Underlying Cardiac Adaptation to Exercise. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1012-1026, 2017.

111. VENKATESAN, V., MADHIRA, S. L., MALAKAPALLI, V. M., CHALASANI, M., SHAIK, S. N., SESHADRI, V., KODAVALLA, V., BHONDE, R.R., NAPPANVEETTIL, G. Obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome: a study in WNIN/Ob rats from a pancreatic perspective. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

112. WILSON, P.W.; D'AGOSTINO, R.B.; SULLIVAN, L.; PARISE, H.; KANNEL, W.B. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 162, n. 16, p. 1867-72, 2002.

113. WISLØFF, U., STØYLEN, A., LOENNECHEN, J. P., BRUVOLD, M., ROGNMO, Ø., HARAM, P. M., TJØNNA, A. E., HELGERUD, J., SLØRDAHL, S. A., LEE, S. J., VIDEM V., BYE, A., SMITH, G. L., NAJJAR, S. M., ELLINGSEN, Ø., SKJÆRPE, T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus

moderate continuous training in heart failure patients. **Circulation**, v. 115, n. 24, p. 3086-3094, 2007.

114. WISLOFF. U.; LOENNECHEN, J.P.; FALCK, G.; BEISVAG, V.; CURRIE, S.; SMITH, G.; ELLINGSEN, O. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. **Cardiovascular Research**, London, v. 50, n. 3, p. 495-508, 2001.

115. WONG, C.Y. ; O'MOORE-SULLIVAN, T.; LEANO, R.; BYRNE, N.; BELLER, E.; MARWICK, T.H. Alterations of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity. **Circulation,** Dallas, v. 110, n. 19, p. 3081-3087, 2004.

116. WOODS, S.C.; SEELEY, R.J.; RUSHING, P.A.; D'ALESSIO, D.; TSO, P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 133, n. 4, p. 1081-7, 2003.

117. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight. Geneva: WHO, 2016 [accesso 2017 Dec 14]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/

118. ZENG, H.; VAKA, V.R.; HE, X.; BOOZ, G.W.; CHEN, J.X.High-fat diet induces cardiac remodelling and dysfunction: assessment of the role played by SIRT3 loss. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, Oxford, v. 20, n. 10, p. 1-10, 2015.

119. ZAMAN, M. Q., LERAY, V., LE BLOC'H, J., THORIN, C., OUGUERRAM, K., & NGUYEN, P. Lipid profile and insulin sensitivity in rats fed with high-fat or high-fructose diets. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S1, p. S206-S210, 2011.

120. ZHAI, P., GALEOTTI, J., LIU, J., HOLLE, E., YU, X., WAGNER, T., SADOSHIMA, J. An angiotensin II type 1 receptor mutant lacking epidermal growth factor receptor transactivation does not induce angiotensin II–mediated cardiac hypertrophy. **Circulation Research**, v. 99, n. 5, p. 528-536, 2006.

7. ANEXO 1- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado"Efeito do Treinamento resistido sobre a cinética de CA +Z intracelular miocárdica de ratos obesos"**,Protocolo nº.16/2016,sob a responsabilidade de** André Soares Leopoldo **que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata(exceto o homem), para fins de pesquisa científica(ou ensino)encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal(CONCEA),e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS(CEUA) DO(A) Centro de Ciências da Saúde-Maruípe-Vitória-ES em 01-07-2016**

Vigência do Projeto	Início:Agosto/2016 Término: Julho/2018
Espécie/Linhagem	Ratos Wistar
Nº de Animais	Experimento Piloto:0 Protocolo Experimental:58 Total:58
Peso/Idade	Peso:100-150g Idade:30 dias
Sexo	Macho
Origem	Mamíferos

Vitória (ES), 01 de Julho de 2016.

Presidente do Comitê de Ética no Uso de Animais CEUA/UFES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICATE

We certify that the Protocol **16/2016** related to research project entitled **"Effect of Resistance Training on myocardial Intracelular Calcium Handling of obese rats"**, under responsibility of André Soares Leopoldo, is in accordance with the ethical principles of animal experimentation adopted by this Ethics Committee on Animal Use (CEUA-UFES), being approved at the regular assembly in July 01, 2016.

Vitória (ES), July 01, 2016.

Presidente do Comitê de Ética no Uso de Animais CEUA/UFES