

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

ANDRESSA PRATA LEITE DAMIANI

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO RESISTIDO NA EXPRESSÃO
PROTEICA DO TRÂNSITO DE CÁLCIO INTRACELULAR
MIOCÁRDICO DE RATOS OBESOS**

VITÓRIA, ES
2017

ANDRESSA PRATA LEITE DAMIANI

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO RESISTIDO NA EXPRESSÃO
PROTEICA DO TRÂNSITO DE CÁLCIO INTRACELULAR
MIOCÁRDICO DE RATOS OBESOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do grau de Mestra em Nutrição e Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Lima Leopoldo.

VITÓRIA, ES

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do
Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecário: Rafael Lima de Carvalho – CRB-6 MG-002926/O

D158i Damiani, Andressa Prata Leite, 1992 -
Influência do treinamento resistido na expressão proteica do trânsito
de cálcio intracelular miocárdico de ratos obesos / Andressa Prata Leite
Damiani – 2017.
83 f. : il.

Orientador: Ana Paula Lima Leopoldo.
Coorientador: André Soares Leopoldo.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) – Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Obesidade. 2. Ratos. I. Leopoldo, Ana Paula Lima. II. Leopoldo, André
Soares. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da
Saúde. IV. Título.

CDU: 61

ANDRESSA PRATA LEITE DAMIANI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Mestra em Nutrição e Saúde.

Aprovada em 29 de Novembro de 2017.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Paula Lima Leopoldo
Orientadora
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Rogério Pedrosa
Titular Interno
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Richard Diego Leite
Titular Externo
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICATÓRIA

Com muito amor e gratidão dedico esse trabalho à minha linda família. Em especial aos meus pais, *Ferdinando Damiani* e *Claudia Prata Leite Damiani* e minha irmã, *Fernanda Prata Leite Damiani*, por serem instrumentos de Deus em minha vida, me incentivando e apoiando em todos os momentos que precisei, especialmente nos mais difíceis dessa jornada do Mestrado, me mostrando que tudo é possível quando temos ao nosso lado pessoas que nos amam e torcem pela nossa felicidade e sucesso. Vocês são as minhas inspirações para seguir em frente e buscar sempre ser uma pessoa melhor e mais qualificada. Obrigada por acreditarem em mim antes mesmo que eu pensasse que esse sonho fosse possível. Essa conquista foi realizada com vocês e por vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente Aquele que iluminou minhas ideias diariamente e me deu sabedoria para superar os obstáculos que surgissem, possibilitando que hoje eu pudesse contemplar com alegria e orgulho a conclusão do Mestrado. Agradeço imensamente a Ti *Jesus*, meu Senhor e verdadeiro Mestre.

À minha orientadora, *Profa. Dra. Ana Paula Lima Leopoldo*, por me ensinar a apreciar a beleza da ciência e a compreender que todas as dificuldades da realização de uma pesquisa servem para nosso amadurecimento acadêmico. Agradeço imensamente pela dedicação e zelo em me orientar como aluna, mas principalmente como ser humano. Obrigada por acreditar em mim e no meu potencial para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu coorientador, *Prof. Dr. André Soares Leopoldo*, pela paciência e disponibilidade em educar. Guardo com muito carinho todo o aprendizado da pós-graduação. Obrigada por todo incentivo, esse trabalho não seria possível sem as suas contribuições.

Aos atenciosos, *Prof. Dr. Rogerio Faustino Ribeiro Junior* e *Elis Aguiar Morra* pela plenitude em me ensinar e auxiliar na execução da técnica de *Western Blot*. Obrigada pela colaboração e amizade, com vocês pude aprender que tudo feito com dedicação e alegria dá certo.

À banca examinadora, *Prof. Dr. Rogério Pedrosa*, *Prof. Dr. Richard Diego Leite* e *Profa. Dra. Alessandra Medeiros*, pelas ricas contribuições à minha dissertação no exame de qualificação, bem como na defesa. Obrigada por terem aceito o convite e pela disponibilidade em construir um trabalho de qualidade.

Aos queridos, *Alexandre Barroso* e *Catarina Entringer*, pela amizade e parceria. Com vocês as dificuldades e frustrações deram lugar a esperança, força e alegria. Obrigada pela adorável convivência, vocês foram ímpares.

Aos prestativos, *Priscila Murruci* e *Wagner Muller* que por muitas vezes dispuseram das próprias demandas para me ajudar. Vocês dois foram fundamentais na realização desse projeto. Sou muito grata.

Aos amigos do laboratório e da pós-graduação, *Amanda Matias*, *Bettina Blanco*, *Carla Zimerer*, *Hudson Renato*, *Graziely Zaroni*, *Izabor Oakes*, *Jean Loura*, *Joctan Cordeiro*, *Leonardo Caldas*, *Maisa Favoreto*, *Priscilla Spadeto*, *Taynan Luchi*, *Victor Gasparini* e *Weverton Rufo* por compartilharem comigo as dificuldades e as alegrias de cada conquista. Agradeço por toda ajuda, compreensão e convivência.

À minha segunda família, *Gabriele Garoze* e *Raphael Castiglioni* que compartilharam comigo da mesma experiência de morar longe dos pais e irmãos. Agradeço por me acolherem sempre com amor e carinho. Ter o apoio, aconselhamento e a presença de vocês em minha vida me tornou uma pessoa mais forte e mais feliz.

As amigas, *Leilane Huber*, *Michelly Garcia* e *Thais Zorzal* que foram presentes da graduação para mim. Obrigada pela amizade verdadeira e por tantos momentos de felicidade que compartilhamos. Todas as palavras de incentivo que me disseram fizeram com que eu chegasse até aqui.

As amigas conterrâneas, *Anielli Mai*, *Cíntia Paiva*, *Larissa Ferrari* e *Nadine Moreira* por serem tão amáveis. Agradeço por mesmo distante fisicamente se fazerem presentes diariamente, me escutando, aconselhando e apoiando. Essa conquista também é de vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro possibilitando a realização desse Projeto de Mestrado.

EPÍGRAFE

“Posso tudo posso naquele que me fortalece
Nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir
Quero, tudo quero, sem medo entregar meus projetos
Deixar-me guiar nos caminhos que Deus desejou para mim
E ali estar
Vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim
Vou persistir e mesmo nas marcas daquela dor
Do que ficou, vou me lembrar
E realizar o sonho mais lindo que Deus sonhou

Em meu lugar estar à espera de um novo que vai chegar
Vou persistir, continuar a esperar e crer
E mesmo quando a visão se turva e o coração só chora
Mas na alma, há certeza da vitória”

“Peça a Deus que abençoe seus planos e eles darão certo”
Provérbios 16:3

RESUMO

Introdução: A obesidade é considerada uma doença crônica metabólica de origem multifatorial caracterizada pelo acúmulo excessivo de massa adiposa que pode acarretar prejuízos cardíacos como alterações morfológicas e funcionais. As alterações funcionais são relacionadas com o desequilíbrio homeostático das proteínas envolvidas no trânsito de cálcio intracelular miocárdico, importante mecanismo responsável pela regulação da contratilidade e relaxamento do coração. Na tentativa de minimizar e/ou reverter as alterações cardíacas observadas na condição patológica de obesidade, estratégia não farmacológica como o exercício físico têm sido utilizada. O treinamento resistido (TR) é reportado pelos benefícios na melhora da composição corporal e da função cardíaca. Todavia, a relação entre a obesidade, TR e trânsito de cálcio miocárdico ainda necessita ser melhor compreendida. **Objetivo:** Avaliar o efeito do TR na expressão proteica do trânsito de cálcio intracelular miocárdico de ratos obesos, além de analisar os biomarcadores de morbidades associadas à obesidade. **Métodos:** Ratos *Wistar* foram induzidos e expostos à condição de obesidade e posteriormente redistribuídos em grupos sedentários e submetidos ao TR: Controle (C, n=10), Obeso (Ob, n=9), Controle submetido ao treinamento resistido (Ctr, n=11) e Obeso submetido ao treinamento resistido (Obtr, n=11). Os grupos controles receberam dieta padrão e os grupos obesos dieta hiperlipídica. O protocolo de TR em escada foi realizado por 10 semanas, com frequência de 3 dias semanais. O treinamento foi constituído por 4 a 5 séries com intensidades progressivas de 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima (CM), ao término da 4ª série, o animal foi submetido a 5ª série com 100%CM + 30g. Foi realizada análise do perfil nutricional, pressórico, glicêmico, lipídico, hormonal, determinação do teor de água no tecido cardíaco, pancreático, pulmonar e hepático. Além disso, foram analisados o peso total do coração, ventrículos esquerdo e direito, átrios e suas respectivas relações com o comprimento da tibia, bem como, a área seccional transversa, colágeno miocárdico e a expressão proteica das proteínas reguladoras do trânsito de cálcio intracelular miocárdico pela técnica de *Western Blot*. Os dados paramétricos foram expressos em média \pm desvio padrão e os não paramétricos em mediana \pm intervalo interquartil. As comparações entre os grupos C e Ob foram realizadas por *teste t-student*. Para as comparações entre os grupos C, Ob, Ctr e Obtr utilizou-se ANOVA duas vias, complementada com

teste *post hoc* de *Bonferroni*. O nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** Os principais achados constituíram as comorbidades frequentemente visualizadas na condição de obesidade, como hipertrigliceridemia e hiperleptinemia. Além disso, no processo de remodelamento cardíaco, apesar da ausência de hipertrofia, a obesidade acarretou aumento do depósito de colágeno miocárdico intracelular e expressão reduzida de pPLBser16 e pPLB/PLB. As reversões a partir do TR foram expressas pela redução do peso e gordura corporal, índice de adiposidade, triglicerídeos e leptina plasmáticos. **Conclusão:** O TR não foi capaz de reverter o prejuízo de pPLBser16 na condição de obesidade. Todavia representou um tratamento não farmacológico relevante na melhora da composição corporal e dos biomarcadores da obesidade, expressos pela redução do peso e gordura corporal, índice de adiposidade e níveis de triglicerídeos e leptina plasmáticos.

Palavras-chave: Obesidade. Trânsito de Cálcio Miocárdico. Treinamento Resistido.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is considered a chronic metabolic disease of multifactorial origin characterized by excessive accumulation of adipose mass that can lead to cardiac damages such as morphological and functional changes. The functional alterations are related to the homeostatic imbalance of the proteins involved in calcium handling, an important mechanism responsible for the regulation of contractility and relaxation of the heart. In an attempt to minimize and/or reverse cardiac changes observed in the pathological condition of obesity, non-pharmacological strategy such as physical exercise have been used. Resistance training (RT) has been reported for benefits in improving body composition and cardiac function. However, the relationship between obesity, RT and calcium handling still needs to be clarified and better understood. **Objective:** To evaluate the effect of RT on the protein expression of calcium handling in obese rats, besides analyzing the biomarkers of morbidities associated with obesity. **Methods:** Wistar rats were induced and exposed to the condition of obesity and later redistributed in sedentary groups and submitted to RT: Control (C, n = 10), Obese (Ob, n = 9), Control submitted to resistance training (Ctr, n = 11) and Obese submitted to resistance training (Obtr, n = 11). The control groups received standard diet and the obese groups hyperlipidic diet. The ladder RT protocol was performed for 10 weeks, with frequency of 3 days a week. The training consisted of 4 to 5 series with progressive intensities of 50%, 75%, 90% and 100% of the maximum load (ML), at the end of the 4th grade, the animal was submitted to 5th grade with 100% ML + 30g. The analysis of the nutritional, blood pressure, glycemic, lipid, and hormonal profile and determination of the water content in cardiac, pancreatic, pulmonary and hepatic tissue were performed. In addition, the total weight of the heart, left and right ventricles, atriums and their respective relationships with tibial length, as well as the cross sectional area, myocardial collagen, and protein regulatory expression of calcium handling were analyzed by Western Blot technique. Parametric data were expressed as mean \pm standard deviation and the nonparametric in median \pm interquartile range. The comparisons between groups C and Ob were performed by Test t. For the comparisons between groups C, Ob, Ctr and Obtr two-way ANOVA was used and complemented with Bonferroni post hoc test. The level of significance was 5%. **Results:** The main findings were the frequently comorbidities seen in the

condition of obesity, hypertriglyceridemia and hyperleptinemia. In addition, in the process of cardiac remodeling, despite the absence of hypertrophy, obesity led to an increase in the deposition of myocardial collagen and expression of pPLBser16 and pPLB/PLB reduced. The reversals from RT were expressed by reduction of body weight and fat, adiposity index, plasmatic triglycerides and leptin. **Conclusion:** The RT was not able to reverse the pPLBser16 impairment in the obesity condition. However, it represented a relevant non-pharmacological treatment in the improvement of body composition and the biomarkers of obesity, expressed by the reduction of body weight and fat, adiposity index and plasma triglycerides and leptin levels.

Key words: Obesity. Myocardial Calcium Handling. Resistance Training.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANOVA: Análise de Variância.	HDL: Lipoproteínas de Alta Densidade.
AC: Adenilato Ciclase.	Ip: Via Intraperitoneal.
APS: Persulfato de Amônio.	Kcal: Kilocaloria.
ASC: Área Sob a Curva.	LPL: Lipase Lipoproteica.
AST: Área Seccional Transversa.	M: Molar.
AT: Átrios.	mM: Milimolar.
β: Beta.	mm: Milímetros.
β-AR: Receptor β-adrenérgico.	mmHg: Milímetros de Mercúrio.
β-ARK: Quinase do Receptor β-adrenérgico.	MMP: Metaloproteinases.
C: Grupo Controle Sedentário.	n: Número.
Ca²⁺: Cálcio.	Ob: Grupo Obeso Sedentário.
cAMP: Monofosfato Cíclico de Adenosina.	Obtr: Grupo Obeso Submetido ao Treinamento Resistido.
Canal L: Canal do Tipo L.	ON: Óxido Nítrico.
cm: Centímetro.	PA: Pressão Arterial.
Ctr: Grupo Controle Submetido ao Treinamento Resistido.	PAD: Pressão Arterial Diastólica.
DHGNA: Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica.	PAM: Pressão Arterial Média.
DTT: Ditiotreitól.	PAS: Pressão Arterial Sistólica.
ELISA: Ensaio Imunossorvente Ligado a Enzima.	PCF: Peso Corporal Final.
EROS: Espécies Reativas de Oxigênio.	PKA: Proteína Quinase A.
FAPES: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo.	PLB: Fosfolambam.
g: Grama.	pPLBser16: Fosfolambam Fosforilada na Via Serina16.
GRK: Quinase de Receptores Acoplados a Proteína G.	PS: Ponto de Separação.
Gs: Proteína de Ligação Ativadora.	rpm: Rotações por Minuto.
	RS: Retículo Sarcoplasmático.
	SDS: Dodecil Sulfato de Sódio.
	SERCA2a: Bomba de Cálcio do Retículo Sarcoplasmático.
	TGF-β: Fator de Transformação do Crescimento Beta.

TCM: Teste de Carga Máxima.

TCMF: Teste de Carga Máxima Final.

TCMI: Teste de Carga Máxima Inicial.

TG: Triglicerídeos.

TR: Treinamento Resistido.

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo.

μm^2 : Micrômetro.

V: Volts.

VD: Ventrículo Direito.

VE: Ventrículo Esquerdo.

VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade.

°C: Graus Celsius.

%: Porcentagem.

Δ : Delta.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação dos períodos experimentais.....	25
Figura 2. Representação esquemática do critério utilizado para composição dos grupos controle e obeso.....	26
Figura 3. Constituição dos grupos de acordo com o número de animais.....	27
Figura 4. Equipamento utilizado para a realização do protocolo de treinamento resistido com vista frontal (a) e vista lateral (b). Adaptado de Neto (2017) ⁷¹	28
Figura 5. Desenho experimental do estudo.....	30
Figura 6. Evolução do peso corporal dos animais durante todo o protocolo experimental.....	38
Figura 7. Desempenho dos grupos no Teste de Carga Máxima (TCM) inicial e final.....	41
Figura 8. Cortes histológicos do ventrículo esquerdo corados com Hematoxilina-eosina para mensuração da Área Seccional Transversa (AST) do miócito.....	44
Figura 9. Cortes histológicos do ventrículo esquerdo corados com <i>Picrosirius Red</i> para mensuração do colágeno miocárdico.....	44
Figura 10. Expressão das proteínas SERCA2a, PLB e pPLBser16 normalizadas pela β -actina.....	45
Figura 11. Razão da expressão das proteínas SERCA2a/PLB e pPLBser16/PLB normalizadas pela β -actina.....	46

Figura 12. Representação esquemática do papel da leptina na fibrose cardíaca.....57

Figura 13. Mecanismo de excitação-contração a partir do receptor β -adrenérgico no coração.....59

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1. Cargas utilizadas durante o treinamento resistido, expressas em g: gramas.....	28
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise bromatológica das dietas.....	24
Tabela 2. Composição calórica das dietas.....	24
Tabela 3. Perfil nutricional dos animais durante as 16 semanas iniciais de protocolo experimental.....	39
Tabela 4. Perfil nutricional durante o protocolo de treinamento resistido.....	39
Tabela 5. Características corporais dos grupos experimentais.....	40
Tabela 6. Resultados bioquímicos e hormonais.....	42
Tabela 7. Teor de água nos tecidos cardíaco, pancreático, pulmonar e hepático....	42
Tabela 8. Resultados morfológicos cardíacos.....	43
Tabela 9. Mensuração da pressão arterial.....	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Delineamento Experimental.....	23
2.1.1 Composição das Dietas	23
2.2 Períodos Experimentais e Constituição dos Grupos	25
2.3 Protocolo de Treinamento Resistido	27
2.3.1 Familiarização ao Treinamento Resistido em Escada	29
2.3.2 Teste de Carga Máxima em Escada.....	29
2.3.3 Protocolo de Treinamento Resistido em Escada.....	30
2.4 Pressão Arterial	31
2.5 Teste de Tolerância à Glicose.....	31
2.6 Eutanásia e Coleta de Material Biológico.....	31
2.7 Avaliação do Estado Nutricional	32
2.8 Perfil Lipídico e Hormonal	33
2.9 Determinação do Teor de Água nos Tecidos	33
2.10 Análise Morfológica Miocárdica	33
2.11 Área Seccional Transversa do Miocárdio (AST)	34
2.12 Avaliação do Colágeno Miocárdico	34
2.13 Técnica de <i>Western Blot</i>	34
2.13.1 Extração Proteica.....	35
2.13.2 Eletroforese em Gel.....	35
2.13.3 Transferência e Identificação das Proteínas	36
2.13.4 Anticorpos Primários	37
2.13.5 Anticorpo de Normalização	37
2.13.6 Anticorpos Secundários.....	37
2.14 Análise Estatística	37
3 RESULTADOS	38
4 DISCUSSÃO	47
5 CONCLUSÃO	62
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXO – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA PRESENTE PESQUISA PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	82

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma doença crônica metabólica não transmissível de origem multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de massa adiposa corporal que pode comprometer a saúde do indivíduo¹. Progressivamente, a incidência e prevalência da obesidade têm atingido grandes populações, tornando-se uma epidemia global¹. Dados epidemiológicos apontaram que em 2016, 39% da população mundial adulta estava acima do peso desejável e 13% eram obesos². Nos Estados Unidos, a Organização Mundial da Saúde relatou maior prevalência, onde 62% da população adulta foi classificada com sobrepeso, incluindo 26% obesidade³. Semelhante ao achado mundial, no Brasil 50,3% dos adultos foram diagnosticados com sobrepeso e 17,1% com obesidade⁴.

Os fatores responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade podem ser de ordem genética e/ou ambiental⁵⁻⁹. Os fatores genéticos relacionam-se com alterações procedentes de mutações genéticas que podem acarretar síndromes, desregulação hormonal e de seus receptores, que por consequência transmutam os mecanismos de regulação da fome e do peso^{6,9}. A obesidade poligênica compreende-se pela interação entre os fatores genéticos e ambientais^{6,9}. Os fatores ambientais possuem maior relevância e representam 95% dos diagnósticos de obesidade¹⁰ e são caracterizados por mudanças no estilo de vida como a adesão de comportamentos não saudáveis, caracterizados pelo alto consumo de alimentos palatáveis, ricos em gordura e açúcares em sua composição, associados com a redução e/ou inatividade física, resultando em ambiente obesogênico, o qual impacta diretamente no estado nutricional e na condição de saúde do indivíduo¹¹⁻¹⁶.

Estudos em obesidade apontam que indivíduos expostos a essa condição cronicamente possuem maior probabilidade de desenvolver desregulação hormonal, alterações nos biomarcadores metabólicos e cardíacos^{17,18}. Em magnitude, algumas patologias são secundárias à obesidade, como dislipidemias, diabetes mellitus e hipertensão arterial^{5,13,19-21}.

Poirier e colaboradores (2014)²² destacaram que mesmo com ausência de comorbidades relacionadas à obesidade, a condição obesa isoladamente pode desencadear alterações histológicas e funcionais no coração, que por consequência podem desencadear cardiomiopatias. Assim, a obesidade é fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares como fibrilação atrial, aterosclerose,

infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca²³⁻²⁶. Nesse contexto, tem sido observada uma estreita relação entre o acúmulo de tecido adiposo e o comprometimento da morfologia e da função cardíaca tanto em humanos como em modelos experimentais²⁷⁻³².

No que diz respeito ao comprometimento estrutural e funcional do miocárdio, os estudos apontam que a obesidade é capaz de promover hipertrofia e disfunção cardíaca^{30,31,33,34}. Dentre as alterações morfofuncionais descritas no coração, desde a década de 90 os pesquisadores haviam apontado que a obesidade é uma condição que predispõe o aumento da massa do ventrículo esquerdo (VE), espessura da parede e da dimensão interna dessa cavidade, com redução das funções sistólica e diastólica^{28,35}. Entretanto, essas adaptações cardíacas são moduladas pela duração da obesidade^{28,36}. Pesquisadores destacaram que as anormalidades funcionais têm sido relacionadas com o desequilíbrio homeostático das proteínas envolvidas no trânsito de cálcio (Ca^{+2}) intracelular miocárdico, importante mecanismo responsável pela regulação da contratilidade e relaxamento do coração^{31,33,37-40}.

Esse mecanismo de regulação inicia-se na contração cardíaca com a abertura dos canais de Cálcio do tipo L (Canal L), com conseqüente influxo de Ca^{+2} para o interior do miócito³⁷. Esse processo desencadeia a liberação de grande quantidade de íons Ca^{+2} a partir do retículo sarcoplasmático (RS) por meio dos receptores de rianodina, mecanismo conhecido como liberação de Ca^{+2} induzida por Ca^{+2} ⁽⁴¹⁾. A alta concentração de Ca^{+2} citosólico permite a ligação desse íon com a troponina C, para posterior interação entre actina-miosina, caracterizando a contração miocárdica⁴². Após a excitação-contração, inicia-se o relaxamento miocárdico por meio da remoção rápida dos íons Ca^{+2} para dentro do RS. A recaptura de Ca^{+2} para o interior do RS é modulada pela fosforilação da fosfolambam (PLB), ação que estimula a passagem de Ca^{+2} pela bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático (SERCA2a)⁴³. A fosforilação do PLB promove a dissociação do complexo PLB-SERCA2a, ativando assim a recaptura de Ca^{+2} para o retículo⁴⁴. A desagregação da interação PLB-SERCA2a é responsável pela remoção de aproximadamente 92% do Ca^{+2} citosólico³⁷. Além disso, outras proteínas participam do processo de efluxo de Ca^{+2} citosólico como o trocador sódio cálcio e bomba de Ca^{+2} do sarcolema⁴⁵.

Diversas pesquisas avaliaram a função cardíaca na condição de obesidade induzida por dieta e sua relação com a expressão de proteínas do trânsito de Ca^{+2}

intracelular miocárdico^{17,31,33,46,47}. Enquanto Lima-Leopoldo e colaboradores (2011)³¹ mostraram menor ativação da SERCA2a, em músculo papilar isolado, Relling e colaboradores (2006)³³ observaram que apesar da expressão aumentada de SERCA2a e PLB, a fosforilação de PLB na Serina16 (pPLBser16) estava reduzida, em animais induzidos a obesidade por dieta hipercalórica e hiperlipídica respectivamente. Ademais, corroborando aos achados de Relling e colaboradores (2006)³³, utilizando o mesmo padrão dietético, Lima-Leopoldo e colaboradores (2014)¹⁷ observaram diminuição da pPLBser16, com os níveis de SERCA2a e PLB inalterados. Em contrapartida, em outros estudos encontrados na literatura, não foram observadas alterações na fosforilação da PLB tanto em ratos obesos, como na condição patológica de obesidade associada à hipertensão^{46,47}.

Apesar das evidências apontarem que a obesidade desencadeia alterações metabólicas e cardíacas, medidas não farmacológicas como o exercício físico, têm sido utilizadas como ferramenta eficiente e viável para melhorar os parâmetros corporais e minimizar e/ou reverter as alterações cardíacas observadas na condição patológica de obesidade⁴⁸⁻⁵¹. Dentre os tipos de exercício físico, o treinamento resistido (TR) tem sido discutido na literatura quanto a sua eficácia na melhora da composição corporal, visualizada pela diminuição do peso corporal, gordura corporal e aumento de massa magra^{49,52-54}. Alguns pesquisadores apontaram os efeitos benéficos do TR na condição de obesidade e observaram redução do peso corporal após 6⁽⁵⁵⁾, 8⁽⁵⁴⁾ e 12 semanas⁴⁹ de intervenção. Outros trabalhos ainda destacaram que o TR foi capaz de reduzir a área dos adipócitos e percentual de gordura corporal^{49,55}.

Além dos benefícios acima citados, há décadas o exercício físico tem sido reportado benéfico na melhora da função cardíaca tanto em humanos como em modelo experimental animal⁵⁶⁻⁶⁰. Ahmadiasl e colaboradores (2012)⁶¹ observaram que o exercício físico foi capaz de aumentar o fluxo sanguíneo coronário, bem como a velocidade de contração e relaxamento do VE. Da mesma forma, outros pesquisadores constataram melhora no desempenho contrátil⁶² mesmo em animais infartados⁶³ e induzidos ao diabetes mellitus⁶⁴. Entretanto, essas alterações funcionais observadas no coração, dependem do tipo de exercício utilizado, intensidade e tempo de treinamento⁵⁴.

Dentre os tipos de exercício físico, o TR mostra-se efetivo na melhora do desempenho da função cardíaca em condição patológica de insuficiência cardíaca

crônica⁵⁶. Em adição, o TR mostrou-se benéfico na melhora da função global do VE de animais com infarto do miocárdio⁶³. Em estudos prévios, houve otimização do desempenho ventricular esquerdo em indivíduos submetidos ao TR⁶⁵. Na condição de obesidade, Naylor e colaboradores (2008)⁶⁶ apontaram que o TR foi eficiente na melhora da função diastólica independentemente das alterações morfológicas do VE. Os autores sugerem que a melhora na função diastólica observada após o TR em indivíduos obesos pode ser devido à alterações nas propriedades intrínsecas da parede miocárdica. A disfunção diastólica é uma consequência importante da obesidade, assim, o TR pode potencialmente desempenhar papel importante na reversão e/ou atenuação da progressão desta condição patológica⁶⁶. Apesar de apontar os benefícios do TR em jovens obesos, não foi possível nesse estudo avaliar a expressão das proteínas envolvidas na cinética de Ca^{+2} intracelular miocárdica⁶⁶. Poucos estudos foram encontrados na literatura relacionando o papel do TR na expressão das proteínas responsáveis pela homeostasia do trânsito de Ca^{+2} miocárdico^{67,68}. Junqueira e colaboradores (2016)⁶⁹ avaliaram a expressão gênica de SERCA2a e PLB, entretanto não encontraram efeito do TR na expressão gênica dessas proteínas. Em contrapartida, Melo e colaboradores (2015)⁶⁷ demonstraram em animais sem condição patológica, que o TR promoveu aumento na expressão de SERCA2a bem como melhora da função contrátil de cardiomiócitos isolados. Contudo, a relação entre a obesidade, TR e trânsito de cálcio miocárdico ainda necessita ser melhor compreendida.

Considerando os benefícios do TR na função cardíaca e a escassez de trabalhos na literatura que avaliaram a expressão das proteínas envolvidas na homeostase do transito de Ca^{+2} intracelular miocárdico na condição de obesidade, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do TR na expressão proteica do trânsito de Ca^{+2} intracelular miocárdico de ratos obesos, bem como analisar os biomarcadores de morbidades associadas à obesidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados 58 ratos *Wistar* com aproximadamente 150 g, com 30 dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de polipropileno com tampas de arame cromado, e forradas com maravalha de *Pinus* peneirada. O ambiente foi controlado com temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade $55 \pm 5\%$ e ciclo 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 da UFES, sob protocolo 16/2016.

2.1 Delineamento Experimental

Os animais passaram por um período de sete dias de aclimação e em seguida foram randomizados sistematicamente em dois grupos: a) controle: alimentados com dieta padrão (C, n= 29) e b) obeso: alimentados com dieta hiperlipídica (Ob, n= 29). Ambos os grupos receberam 40g de ração diariamente e após 24 horas a quantidade não consumida foi mensurada. A oferta de água foi *ad libitum*.

2.1.1 Composição das Dietas

Os animais do grupo controle 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 é 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 do grupo obeso receberam quatro dietas hiperlipídicas alternadas diariamente. As rações de queijo, chocolate bacon e baunilha apresentavam 49,2%

de suas calorias provenientes de gordura, 28,9% de carboidratos e 21,9% de proteínas (RC Focus 2413, 2414, 2415 e 2416, Agrocere, Rio Claro, São Paulo, Brasil), as quais apresentam a mesma composição nutricional, com exceção dos aditivos flavorizantes. As rações hiperlipídicas são 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 análise bromatológica das dietas padrão e hiperlipídica, bem como suas composições calóricas estão apresentadas respectivamente na Tabela 1 e Tabela 2.

Tabela 1. Análise bromatológica das dietas.

Componentes	Dietas	
	Padrão	Hiperlipídica
Proteína (g)	22,0	20,0
Carboidrato (g)	40,8	26,4
Gordura (g)	4,5	20,0
Vitaminas e Minerais (g)	12,2	12,1
Fibras (g)	8,0	9,0
Umidade (%)	12,5	12,5

Composição das dietas padrão e hiperlipídica em 100g. Valores expressos em g: gramas e %: porcentagem.

Tabela 2. Composição calórica das dietas.

	Dietas	
	Padrão	Hiperlipídica
Calorias da proteína (%)	30,2	21,9
Calorias do carboidrato (%)	55,9	28,9
Calorias da gordura (%)	13,9	49,2
Densidade Calórica (Kcal/g)	2,92	3,65

Composição calórica das dietas padrão e hiperlipídica quanto à energia proveniente de macronutrientes. Valores expressos em %: porcentagem e kcal/g: calorias por grama.

2.2 Períodos Experimentais e Constituição dos Grupos

Inicialmente o protocolo experimental foi constituído de dois momentos: Indução à Obesidade e Exposição à Obesidade (Figura 1).

A indução à obesidade foi compreendida pelo momento em que o grupo alimentado por dieta hiperlipídica apresentou estatisticamente maior peso corporal em relação ao grupo alimentado com dieta padrão. Esse período experimental objetivou caracterizar o *momento inicial da obesidade*, conforme descrito em estudos prévios realizados em nosso laboratório^{17,29,38}. A exposição à obesidade foi representada pelo período no qual o grupo Ob foi mantido e exposto à condição de obesidade.

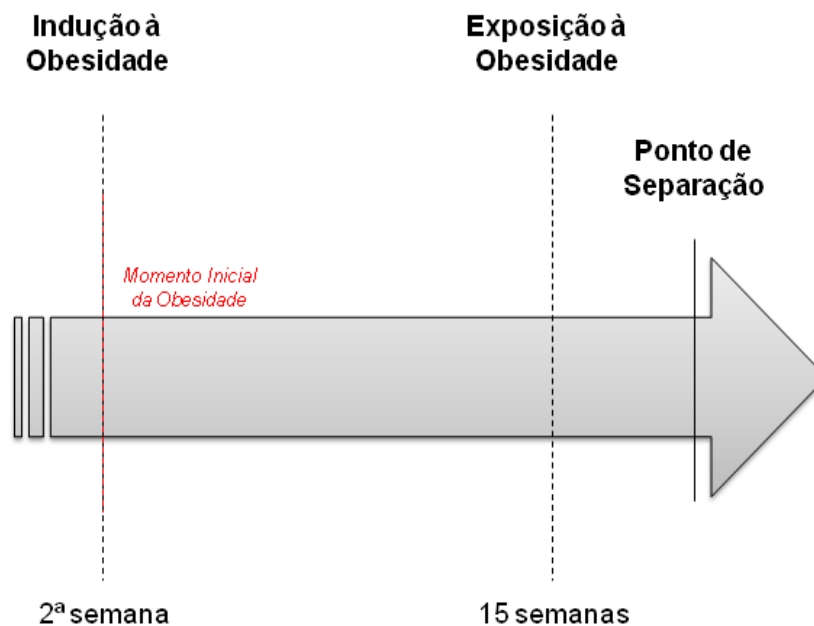


Figura 1. Representação dos períodos experimentais.

Ao final da exposição à obesidade com o intuito de constituir dois grupos homogêneos foi aplicado um ponto médio, denominado ponto de separação (PS)²⁹. Para tanto, foi construído um intervalo de confiança de 95% baseado nas médias do peso corporal dos grupos C e Ob. O PS foi determinado entre o limite superior do grupo C e o limite inferior do grupo Ob. A partir desse ponto foram excluídos do grupo C, os animais com peso corporal acima do PS e do grupo Ob, os animais com peso corporal abaixo do PS, conforme a Figura 2.

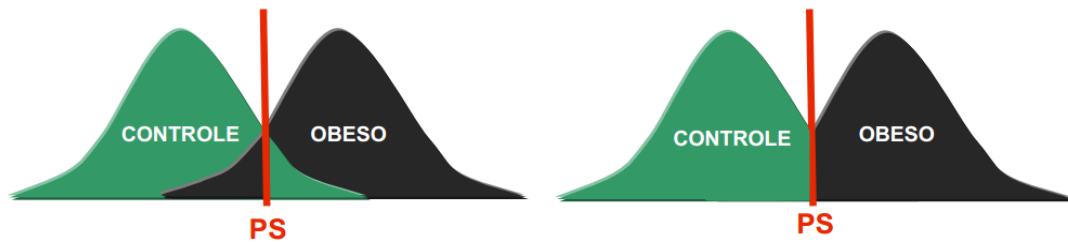


Figura 2. Representação esquemática do critério utilizado para composição dos grupos controle e obeso. PS: Ponto de Separação.

Após a aplicação do critério e identificação dos falsos controles e falsos obesos, foram excluídos 4 animais do grupo controle e 8 animais do grupo obeso, totalizando 25 animais no grupo C e 21 animais no grupo Ob. Em seguida, os grupos C e Ob foram randomizados sistematicamente em mais dois grupos, sedentários e submetidos ao TR, constituindo quatro grupos experimentais: grupo controle sedentário (C) (n= 12), grupo controle submetido ao treinamento resistido (Ctr) (n= 13), grupo obeso sedentário (n=10) e grupo obeso submetido ao treinamento resistido (Obtr) (n=11). No entanto, ao longo do protocolo experimental 5 animais foram a óbito por causas indeterminadas, permanecendo assim: C (n=10), Ctr (n= 11), Ob (n=9) e Obtr (n=11), conforme a Figura abaixo.

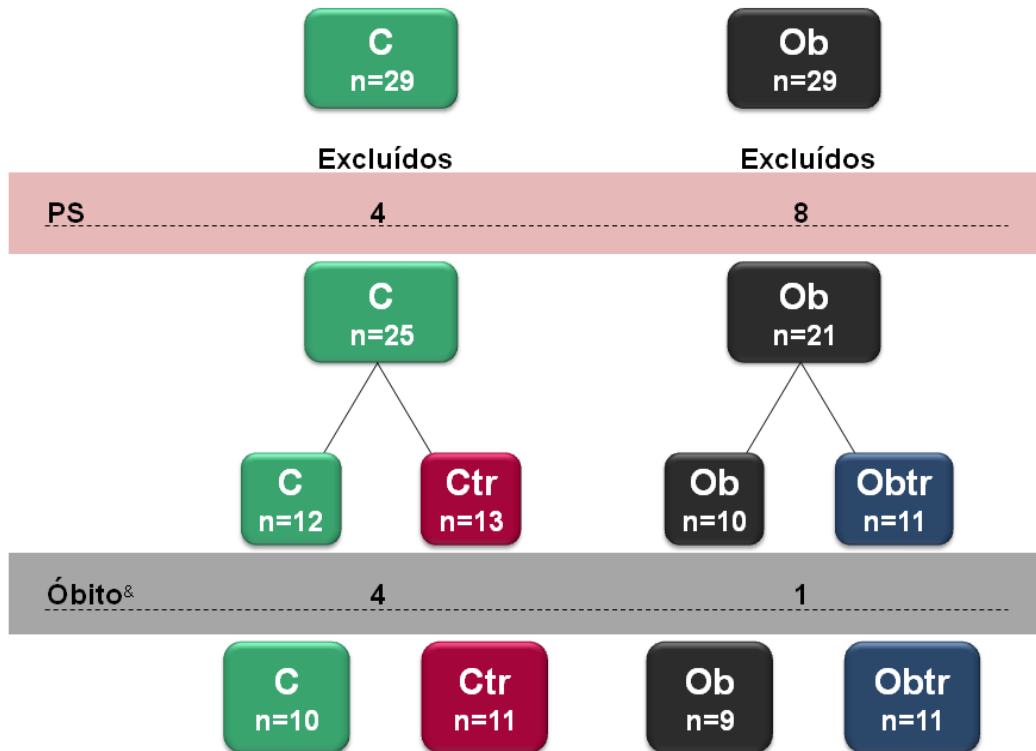


Figura 3. Constituição dos grupos de acordo com o número de animais. C: controle. Ctr: controle submetido ao treinamento resistido; Ob: obeso; Obtr: obeso submetido ao treinamento resistido; n: número de animais; PS: ponto de separação; &: óbitos por causas indeterminadas.

2.3 Protocolo de Treinamento Resistido

O protocolo de TR, adaptado de Hornberger & Farrar (2004)⁷⁰, foi realizado por meio do método de escada adaptada para ratos que se caracteriza por um treinamento voluntário. O equipamento de treinamento utilizado apresentou a seguinte estrutura: 110cm altura, 18cm de largura, com 2,0cm entre os degraus e 80° de inclinação. No ápice da escada, havia uma caixa com dimensões de 20x20x20cm conforme apresentado na Figura 4, vista lateral (a) e frontal (b). As cargas utilizadas no treinamento foram confeccionadas com pó de minério acondicionadas em sacos plásticos e fixadas a anzol de pesca e presas na parte proximal da cauda dos animais com fita autoadesiva crepe 25 mm (Adelbras Ind. e Com. de Adesivos Ltda, São Paulo, Brasil), conforme Imagem 1.

A caracterização da série foi determinada pela subida de forma voluntária do animal, desde o início dos degraus até a entrada completa na caixa situada no topo da escada. Algumas ações como a utilização de ração e toques no dorso do animal

e/ou nos degraus para guiá-los quanto à direção do movimento, foram realizadas com caráter de estímulo para as subidas.

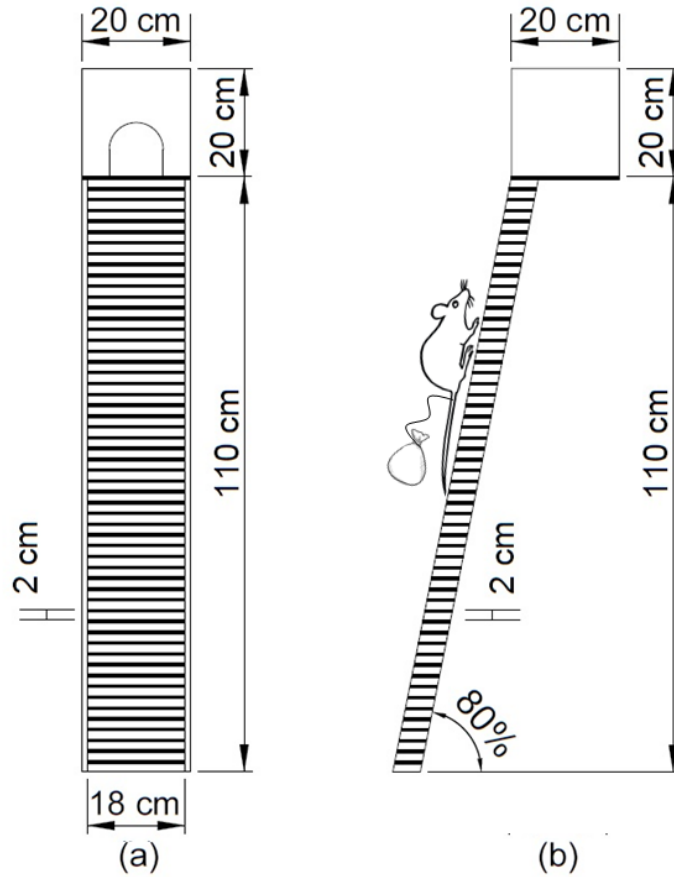


Figura 4. Equipamento utilizado para a realização do protocolo de treinamento resistido com vista frontal (a) e vista lateral (b). Adaptado de Neto (2017)⁷¹.



Imagem 1. Cargas utilizadas durante o treinamento resistido, expressas em g: gramas.

2.3.1 Familiarização ao Treinamento Resistido em Escada

Na última semana do período de exposição à obesidade (16ª semana), todos os grupos experimentais foram familiarizados ao protocolo de TR em escada por três dias não consecutivos (segunda, quarta e sexta-feira) sem a utilização de carga adicional. Os animais foram estimulados a realizarem quatro subidas completas na escada, com intervalo de 60 segundos de descanso entre elas⁷⁰. Antes da primeira tentativa, os ratos foram colocados dentro da caixa superior da escada para que fosse estabelecido um contato inicial do animal com o aparato de treinamento. Posteriormente os animais foram estimulados a subirem progressivamente desde a base até o topo por quatro vezes.

2.3.2 Teste de Carga Máxima em Escada

Na semana subsequente a familiarização, os animais realizaram o teste de carga máxima (TCM)⁷⁰. Foram realizados três TCM durante o período de treinamento, sendo: 1) início do protocolo (17ª semana), 2) cinco semanas após o teste inicial (21ª semana) e 3) final do protocolo de treinamento (26ª semana). O primeiro TCM iniciou com a realização de uma série pelo animal com 50% do seu peso corporal. A cada série completa realizada, foi acrescentado 30g à carga, até que o animal não fosse capaz de conduzir a mesma até o topo. A maior carga conduzida com sucesso por toda a escada foi considerada a carga máxima, a qual foi utilizada para ajustar as prescrições das intensidades no treinamento. O segundo TCM foi realizado apenas com os animais treinados para controle e ajuste das cargas de treinamento. O terceiro e último TCM, iniciou com 50% da carga máxima conduzida pelo animal na última sessão de treinamento. O intervalo entre cada série foi de 120 segundos para todos os testes.

Para análise do desempenho dos animais no treinamento em escada, foi utilizada a carga máxima conduzida, apresentada em carga absoluta (g) e carga relativa, representada pela seguinte fórmula: carga absoluta/peso corporal⁷¹. Em condições dinâmicas como o TR em escada, a normalização da carga máxima conduzida pelo peso corporal representa um importante indicativo do desempenho funcional na condição de obesidade^{72,73}. Para comparação dos resultados obtidos

entre os testes foi utilizado o delta (Δ) de força calculado pela fórmula: $\text{TCMF} - \text{TCMI} \times 100 / \text{TCMI}$ expressa em porcentagem (%). O TCMF e TCMI representam as cargas máximas conduzidas no teste de carga máxima final e inicial respectivamente^{74,75}.

2.3.3 Protocolo de Treinamento Resistido em Escada

O TR em escada foi realizado três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feiras), durante 10 semanas e consistiu de quatro a cinco subidas (séries) com intensidade alta e progressiva de 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima do TCM ou da última sessão de treinamento. Se o animal concluísse a quarta série era submetido a uma quinta série com 100% da carga máxima + 30g, para acompanhar a evolução da força e ajustar os valores de carga máxima de cada animal. O intervalo de recuperação entre as séries foi de 60 segundos. Evidenciamos que o protocolo de TR em escada foi determinado de acordo com a literatura⁷⁰ e estudo piloto prévio.

A Figura 5 pormenoriza o desenho experimental do estudo, bem como as análises realizadas.

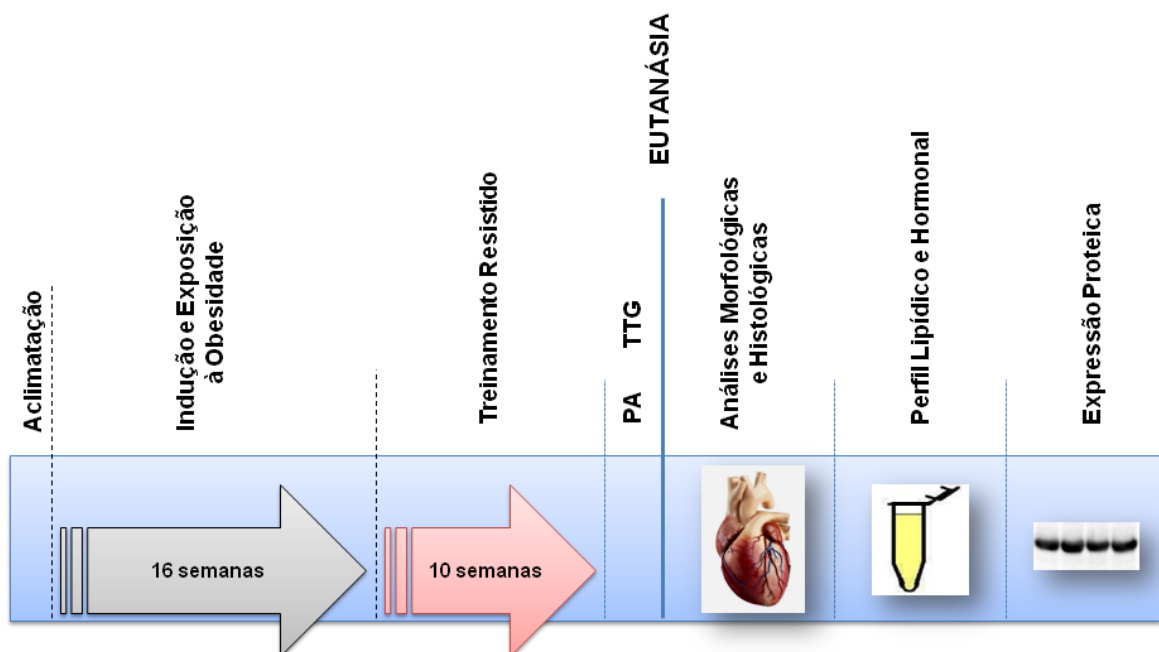


Figura 5. Desenho experimental do estudo. PA: Pressão Arterial. TTG: Teste de Tolerância à Glicose.

2.4 Pressão Arterial

Após o término do protocolo experimental, foram coletadas medidas de Pressão Arterial Sistólica (PAS) e Pressão Arterial Diastólica (PAD) de maneira indireta, por meio do método de pletismografia de cauda (*Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil*)⁷⁶. Os animais foram acomodados em câmara aquecida, com temperatura média de 37°C por 15 minutos⁷⁷. 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* (Medidor de Pressão Caudal *Software, Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, SP, Brasil*). Foram realizadas três medidas em cada animal para obtenção de um registro médio. A Pressão Arterial Média (PAM) foi obtida a partir da fórmula sugerida por Aires (2008)⁷⁸, PAM: $(PAS + 2 \times PAD) / 3$.

2.5 Teste de Tolerância à Glicose

O perfil glicêmico *in vivo* foi analisado após uma sobrecarga de glicose⁷⁹. 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, considerado condição basal e após 30, 60 e 120 minutos da infusão da glicose. A mensuração dos níveis glicêmicos foi realizada com glicosímetro portátil (*Accu-Chek Performa Nano Kit, Roche Diagnostic Ltda, São Paulo, Brasil*). A tolerância à glicose nestes animais foi avaliada pela área glicêmica⁸⁰.

2.6 Eutanásia e Coleta de Material Biológico

Ao final do protocolo experimental, os animais permaneceram em jejum por 12 a 15 horas e receberam uma injeção com heparina sódica (1000U/kg/i.p; *Heparamax-s, Blau Farmacêutica S. A., São Paulo, Brasil*). Após 30 minutos, foram

sedados e analgesiados com cloridrato de ketamina (50mg/kg/ip; Dopalen, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (10mg/kg/ip; Anasedan, Sespo Indústria e Comércio Ltda - Divisão Vetbrands, Jacareí, São Paulo, Brasil) e eutanasiados por toracotomia mediana. Após toracotomia mediana, o coração foi rapidamente removido e suas câmaras dissecadas para pesagem *in natura* em balança de precisão 0,001g (Marte Científica, São Paulo, Brasil). A tíbia foi dissecada e seu comprimento mensurado com auxílio de paquímetro analógico em aço 6" (*Zaas Precision, Amatools Comercial e Importadora Ltda, Piracicaba, São Paulo, Brasil*). As amostras de sangue foram coletadas na artéria abdominal e centrifugadas a 5000rpm por 10 minutos (*Eppendorf Centrifuge 5804-R, Hamburg, Germany*) em tubos Falcon e o plasma foi coletado e armazenado em tubos *eppendorfs* no freezer à -80°C (*Thermo Fisher Scientific LLC, Asheville, NC, USA*). Os tecidos utilizados para análises posteriores foram coletados e congelados imediatamente com nitrogênio líquido e posteriormente acondicionados em freezer -80°C (*ColdLab Ultra Freezer CL374-86V, Piracicaba, São Paulo, Brasil*).

2.7 Avaliação do Estado Nutricional

O perfil nutricional foi determinado pela ingestão alimentar, ingestão calórica, eficiência alimentar, análise do peso corporal, gordura corporal e índice de adiposidade. A ingestão alimentar foi calculada a partir da diferença entre a quantidade de ração ofertada diariamente ao animal (40g) e a quantidade não ingerida após 24h. A ingestão calórica determinou-se pelo produto da ingestão alimentar e do valor calórico da ração. A eficiência alimentar foi compreendida pelo ganho de peso corporal, dividido pela ingestão calórica total, multiplicado por 100. O peso corporal dos animais foi aferido semanalmente, utilizando-se balança de precisão digital 0,1g (EduTec, Inca Tecnologia de Produtos e Serviços Ltda, Brasil). A quantidade de gordura corporal determinou-se a partir da dissecação dos depósitos de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral. O índice de adiposidade foi calculado dividindo-se a gordura corporal pelo peso corporal final, multiplicado por 100^(81,82).

2.8 Perfil Lipídico e Hormonal

As concentrações séricas de triglicerídeos (TG), colesterol total e lipoproteínas de alta densidade (HDL) foram determinadas utilizando-se kits específicos (Bioclin Bioquímica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e Synermed do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) e analisadas por equipamento bioquímico automatizado (BS-200, Mindray do Brasil - Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda, São Paulo, Brasil). A concentração hormonal de leptina foi determinada pelo método de Ensaio Imunossorvente Ligado a Enzimas (ELISA) utilizando-se kit específico (*Linco Research Inc, St. Louis, MO, USA*). A leitura foi realizada com auxílio de leitor de micro-placa (*Asys Expert Plus Microplate Reader, Cambourne, Cambridge, UK*) e sua mensuração feita em duplicata.

2.9 Determinação do Teor de Água nos Tecidos

Determinou-se o teor de água tecidual nas amostras de VE, ventrículo direito (VD), átrios (AT), pâncreas, pulmão e fígado. As amostras foram submetidas à secagem em estufa microprocessada de secagem (Q317M2 2 portas, Quimis, São Paulo, Brasil) sob temperatura de $55 \pm 5^\circ\text{C}$ por período de 48 horas. A determinação do teor de água foi expressa em valores relativos e calculada pela seguinte fórmula: $[(\text{peso } in\ natura - \text{peso seco})/\text{peso } in\ natura] \times 100\%$ ^(83,84).

2.10 Análise Morfológica Miocárdica

A análise morfológica miocárdica foi realizada a partir do peso total do coração, VE, VD e AT e das respectivas relações com o comprimento da tíbia a fim de identificar a presença ou ausência de remodelação cardíaca⁸⁶.

2.11 Área Seccional Transversa do Miocárdio (AST)

Os fragmentos de VE coletados foram colocados em solução de paraformaldeído a 4% pH 7,4⁽⁸⁵⁾. A seguir, o tecido miocárdico foi transferido para solução de etanol 70% e incluso em bloco de parafina. Os cortes histológicos de 6mm de espessura foram corados em lâmina com solução de hematoxilina-eosina. Para a análise, os cortes histológicos foram projetados em aumento de 40 vezes com o auxílio de microscópio (*AX70, Olympus Optical CO, Hamburg Germany*). Para cálculo das áreas seccionais dos miócitos foram mensuradas 50 células por VE, com forma arredondada e núcleo visível no centro da célula⁸⁶. As áreas seccionais transversas dos miócitos (AST; μm^2) foram utilizadas como indicador do tamanho celular, caracterizando presença ou ausência de hipertrofia cardíaca.

2.12 Avaliação do Colágeno Miocárdico

Os fragmentos de VE coletados foram transferidos para etanol 70% diluído em água, inclusos em blocos de parafina e corados com *Picrosirius Red*⁸⁹. A análise posterior da quantificação da fração do colágeno intersticial foi realizada utilizando-se 30 a 40 campos por fragmento. Os cortes histológicos foram ampliados em 40 vezes com o auxílio de microscópio biológico (*BEL Photonics Reaserch Bio 3, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil*). As análises foram realizadas por meio de programa de análises (*ImagePro-plus, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA*).

2.13 Técnica de *Western Blot*

Por meio da técnica de *Western Blot*, realizou-se a expressão das proteínas SERCA2a, PLB, pPLBser16 e da proteína de normalização β -actina⁹⁰. A razão SERCA2a/PLB e pPLBser16/PLB também foi determinada^{17,51}.

2.13.1 Extração Proteica

A amostra congelada de VE foi homogeneizada com aparelho (*Polytron, Ika Ultra Turrax T18 Basic, Wilmington, USA*) e com tampão de lise hipotônico (fosfato de potássio 50mM pH 7,0; sucrose 0,3M; ditioneitol (DTT) 0,5mM; ácido etilenodiamino tetra-acético 1mM pH 8,0; fluoreto de fenilmetanossulfonilo 0,3mM; fluoreto de sódio 10mM e inibidor de protease 0,1mg/mL) (*Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA*). O processo foi realizado três vezes durante 10 segundos a 4°C, com intervalos de 20 segundos. O produto da homogeneização foi centrifugado (*Heraeus Megafuge 16R Centrifuge, Langenselbold, Alemanha*) a 12000rpm por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante transferido para tubos *ependorfs* e armazenado em freezer -80°C (*ColdLab Ultra Freezer CL374-86V, Piracicaba, São Paulo, Brasil*). A concentração de proteína foi analisada pelo método de *Lowry*⁹¹, utilizando as curvas de albumina de soro bovino (*Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA*) como padrão. A leitura foi realizada a 750nm, utilizando o espectrofotômetro (*ELx8008 Absorbance Reader, Biotek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA*). Após as dosagens, retiramos o volume necessário de cada amostra para uma concentração de 80µg/µL e 25µg/µL, em um volume final de 15µL, a depender da proteína de interesse.

2.13.2 Eletroforese em Gel

Após a quantificação da concentração proteica, as amostras cardíacas foram diluídas em tampão *Laemmli 2x* (Tris base 1M pH 8,0; Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) 0,1M; DTT 0,4M; glicerol 100%; azul de bromofenol 0,01%, ureia 5M; qsq água ultrapura p/ 10ml) e separadas por eletroforese utilizando sistema *Mini-Protean Tetra System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)*. A corrida eletroforética foi realizada em gel bifásico, *stacking* (Tris hidrocloreto ultrapuro 0,5M pH 6,8; acrilamida 40%; SDS 10%; Persulfato de Amônio (APS) 10%, temed 6mM; água ultra pura 4,8ml) e gel *resolving* com concentração de 12% (Tris hidrocloreto ultrapuro 1,5M pH 8,8; acrilamida 40%; glicerol 100%; SDS 10%; APS 10%; temed 12mM; água ultra pura 8,1ml) ou 15% (Tris hidrocloreto ultrapuro 1,5M pH 8,8; acrilamida 40%; glicerol 100%; SDS 10%; APS 10%; temed 5M; água ultra pura 6,6ml), a depender do peso molecular da proteína de interesse.

No primeiro poço do gel aplicou-se um padrão de peso molecular (*Kaleidoscope Prestained Standards, Bio-Rad, Hercules, CA, USA*) para identificação do tamanho das bandas. A corrida eletroforética foi efetuada a 120V (*Power Pac HC 3.0A, Bio-Rad, Hercules, CA, USA*), por um período variável de acordo com o tamanho da proteína, em média 1h30 minutos, com tampão de corrida (Tris base 0,25M; glicina 192 mM; SDS 10%).

2.13.3 Transferência e Identificação das Proteínas

As proteínas foram transferidas para membrana de nitrocelulose utilizando-se sistema *Mini Trans-Blot (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)* contendo tampão de transferência (Tris base 25 mM; glicina 190 mM; metanol 20% e SDS 10%). Após a transferência os sítios inespecíficos de ligação do anticorpo primário à membrana foram bloqueados mediante incubação com solução bloqueadora a 5% de leite em pó desnatado (Molico, Nestlé Brasil Ltda, Brasil), dissolvido em tampão TBS-T (Tris base 201mM pH 7,5; cloreto de sódio 100mM e tween 20 100%) por 120 minutos à temperatura ambiente (24°C) sob constante agitação. Em seguida, a membrana foi lavada três vezes por 10 minutos em tampão TBS-T (Tris 10mM pH 7,6; cloreto de sódio 150 mM e tween 20 0,1%) e incubada com o anticorpo primário diluído em TBS-T, sob agitação constante *overnight* (20 horas). Após a incubação com o anticorpo primário, a membrana foi lavada três vezes por 10 minutos em tampão TBS-T e incubada com o anticorpo secundário em solução bloqueadora por 60 minutos sob agitação constante. Para remover o excesso de anticorpo secundário, a membrana foi lavada três vezes por 10 minutos em tampão TBS-T. A imunodeteção foi realizada por meio do método de quimioluminescência de acordo com as instruções do fabricante (*ECL Prime Western Blotting Detection, GE Healthcare Life Sciences, São Paulo, Brasil*). As membranas de nitrocelulose foram analisadas em fotodocumentador *Imaging System FX PRO (Bruker BioSpin Corporation, Woodbridge, CT, USA)* e as análises quantitativas das bandas proteicas (*blots*) foram realizadas pelo programa *Image J (Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin-Madison, Wisconsin, EUA)*.

2.13.4 Anticorpos Primários

- PLB *Monoclonal Antibody (2D12)*, mouse IgG2a (ThermoFisher Scientific, Rockford, USA). Concentração 1:2000.
- *Phospholamban (PLN, PLB) (pSer16) pAb serum, rabbit IgG (Badrilla, UK)*. Concentração 1:5000.
- *SERCA2 Antibody (C-20)*, goat (Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA). Concentração 1: 5000.

2.13.5 Anticorpo de Normalização

- β -actina, rabbit (*Cell Signaling Technology, MA, USA*). Concentração 1:5000.

2.13.6 Anticorpos Secundários

- Anticorpos secundários, *anti-mouse, anti-rabbit e anti-goat IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, Inc. Santa Cruz, CA, USA)*. Concentração titulada de 1:5000.

2.14 Análise Estatística

A análise da distribuição dos dados foi realizada pelo teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov*. Os resultados com distribuição normal foram expressos por média e desvio padrão. As comparações entre os grupos controle e obeso foi feita com teste *t de Student* para amostras independentes. Para os grupos C, Ctr, Ob e Obtr utilizou-se a técnica de análise de variância (ANOVA) para o modelo de dois fatores (dieta e treinamento) e complementada com *post-hoc Bonferroni*⁹². Os dados não paramétricos foram apresentados em mediana e intervalo interquartil, e as comparações entre os grupos C, Ctr, Ob e Obtr foram complementadas com *post-hoc Holm-Sidak*. Todos os gráficos foram idealizados no programa *Graphpad Prism 6*. As conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi *SigmaStat* versão 3.5.

3 RESULTADOS

A Figura 6 apresenta a evolução do peso corporal dos animais durante as 26 semanas de protocolo experimental. O momento de indução à obesidade determinou-se da semana inicial a segunda semana, período em que o peso do grupo obeso foi maior que o grupo controle ($p=0,04$). A partir da segunda semana até a 16ª a diferença de peso entre os grupos se manteve, caracterizando o período de exposição à obesidade.

Após 15 semanas de exposição à obesidade, os animais foram redistribuídos em sedentários e submetidos ao TR. O comportamento do peso corporal diferiu-se de acordo com o tipo de intervenção recebida. Os grupos Ob e Obtr possuíram maior peso corporal que os grupos C e Ctr, resultado que se manteve durante todo o período experimental (17ª a 26ª semana) ($Ob>C$; $Obtr>Ctr$). Apenas na 24ª a 26ª semana o TR reduziu o peso dos animais Obtr em comparação ao grupo obeso ($Obtr<Ob$).

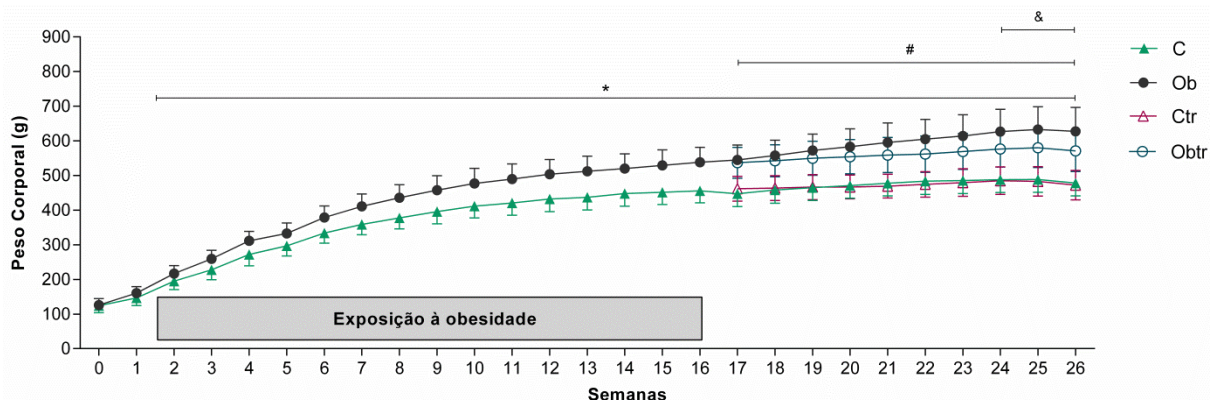


Figura 6. Evolução do peso corporal dos animais durante todo o protocolo experimental. Grupos C ($n=21$) e Ob ($n=20$). Após período de treinamento: C ($n=10$), Ctr ($n=11$), Ob ($n=9$) e Obtr ($n=11$). n : número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido. Valores expressos em média \pm desvio padrão. $p<0,05$ - * (Ob vs. C); # (Obtr vs. Ctr); & (Obtr vs. Ob). Teste *t Student* (semana 0-16); ANOVA duas vias para medidas repetidas, complementada com o teste *post-hoc Bonferroni* (semana 17-26).

O perfil nutricional dos animais na semana inicial do protocolo experimental até a 16ª semana está apresentado na Tabela 3. A ingestão alimentar e eficiência alimentar dos grupos controle e obeso foram semelhantes. Entretanto, o grupo obeso apresentou maior ingestão calórica e ganho de peso corporal que o grupo controle ($Ob>C$, $p<0,001$).

Tabela 3. Perfil nutricional dos animais durante as 16 semanas iniciais de protocolo experimental.

Variáveis	Grupos	
	C (n=21)	Ob (n=20)
Ingestão Alimentar (g/dia)	22,13 ± 1,77	21,27 ± 1,99
Ingestão Calórica (Kcal/dia)	64,63 ± 5,16	76,95 ± 7,44*
Ganho de Peso Corporal (g)	331,60 ± 36,84	412,46 ± 42,51*
Eficiência Alimentar (%)	4,59 ± 0,42	4,82 ± 0,61

Grupos C (n=21) e Ob (n=20). Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso p<0,05 - *(Ob vs. C). Teste *t Student*.

A Tabela 4 apresenta o perfil nutricional dos grupos no período de TR, compreendido entre a 17^a a 26^a semana. Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos para ingestão alimentar (p=0,48). No entanto, a ingestão calórica e eficiência alimentar foram maiores nos grupos alimentados por dieta hiperlipídica frente aos grupos controles (Ob>C; Obtr>Ctr). Os grupos submetidos ao TR apresentaram menor eficiência alimentar comparados aos grupos sedentários (Ctr<C; Obtr<Ob).

Tabela 4. Perfil nutricional durante o período de treinamento resistido.

Variáveis	Grupos			
	C (n=10)	Ob (n=9)	Ctr (n=11)	Obtr (n=11)
Ingestão Alimentar (g/dia)	21,75 ± 2,10	21,64 ± 2,33	21,60 ± 2,57	20,47 ± 2,06
Ingestão Calórica (Kcal/dia)	63,52 ± 6,15	78,98 ± 8,49*	63,07 ± 7,50	74,71 ± 7,53 [#]
Ganho de Peso Corporal (g)	30,82 ± 19,88	82,22 ± 30,53*	10,41 ± 14,06	34,37 ± 27,26 ^{#&}
Eficiência Alimentar (%)	0,69 ± 0,42 (+0,21;+1,43)	1,46 ± 0,45* (+0,53;+2,05)	0,21 ± 0,33 ^o (-0,42;+0,57)	0,63 ± 0,46 ^{#&} (-0,08;+1,42)

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; Kcal/dia: kilocaloria consumida por dia; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido. Para Eficiência Alimentar foi apresentada a variação dos dados em parênteses. p<0,05 - *(Ob vs C); [#](Obtr vs. Ctr); ^o(Ctr vs. C); [&](Obtr vs. Ob). ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

Para as características corporais dos grupos experimentais, os grupos Ob e Obtr apresentaram maiores valores de peso corporal inicial e final, ganho de peso corporal, gorduras epididimal, retroperitoneal e visceral, gordura corporal e índice de adiposidade comparados com os grupos C e Ctr (Ob>C; Obtr>Ctr). O TR reduziu o

peso corporal final, gorduras epididimal e visceral, gordura corporal e índice de adiposidade no grupo Obtr em relação ao grupo Ob (Obtr<Ob) (Tabela 5).

Tabela 5. Características corporais dos grupos experimentais.

Variáveis	Grupos			
	C (n=10)	Ob (n=9)	Ctr (n=11)	Obtr (n=11)
PCF (g)	477,97 ± 36,76	627,26 ± 69,25*	472,04 ± 42,64	571,15 ± 59,82 ^{#&}
Gordura Epididimal (g)	7,39 ± 1,97	15,60 ± 4,57*	6,88 ± 1,02	11,14 ± 3,23 ^{#&}
Gordura Retroperitoneal (g)	12,13 ± 2,60	28,23 ± 7,14*	12,72 ± 1,07	24,55 ± 7,31 [#]
Gordura Visceral (g)	8,23 ± 1,51	18,59 ± 5,91*	7,69 ± 0,88	13,55 ± 4,57 ^{#&}
Gordura Corporal (g) [§]	28,25 ± 8,60	65,80 ± 26,30*	27,30 ± 3,85	48,30 ± 20,20 ^{#&}
Índice de Adiposidade (%)	5,79 ± 0,90	9,81 ± 1,75*	5,82 ± 0,73	8,51 ± 1,81 ^{#&}

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; PCF: peso corporal final após término do protocolo de treinamento. [§]dados apresentados em mediana ± intervalo interquartil. p<0,05 - *(Ob vs. C); [#](Obtr vs. Ctr); [&](Obtr vs. Ob). ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni* para dados de distribuição normal. Para amostras não paramétricas, complementadas com teste *post-hoc Holm-Sidak*.

A Figura 7 ilustra os parâmetros de desempenho de força representados pela carga conduzida absoluta (a), carga conduzida relativa (b) no TCMI e TCMF. Além disso, foi calculado o Δ força (c) entre os testes realizados em escada. No TCMI os grupos experimentais não apresentaram diferença significativa e conduziram a mesma carga absoluta (p=0,18). Todavia, no TCMF, os grupos treinados conduziram maior carga absoluta que os seus respectivos controles (Ctr>C, p<0,001; Obtr>Ob, p<0,001). Além disso, os grupos treinados apresentaram maior nível de força que os grupos sedentários, p<0,001 (Ctr>C; Obtr>Ob). Ao normalizar a carga máxima conduzida no TCMI pelo peso corporal, foi possível observar que o grupo Obtr obteve menores valores comparados ao grupo Ctr (Obtr<Ctr; p=0,02). Para carga conduzida relativa no TCMF, o grupo Obtr permaneceu com menor valor comparado ao grupo Ctr (Obtr<Ctr, p>0,001); e os grupos treinados apresentaram valores superiores frente aos grupos sedentários (Ctr>C, p<0,001; Obtr>Ob, p<0,001).

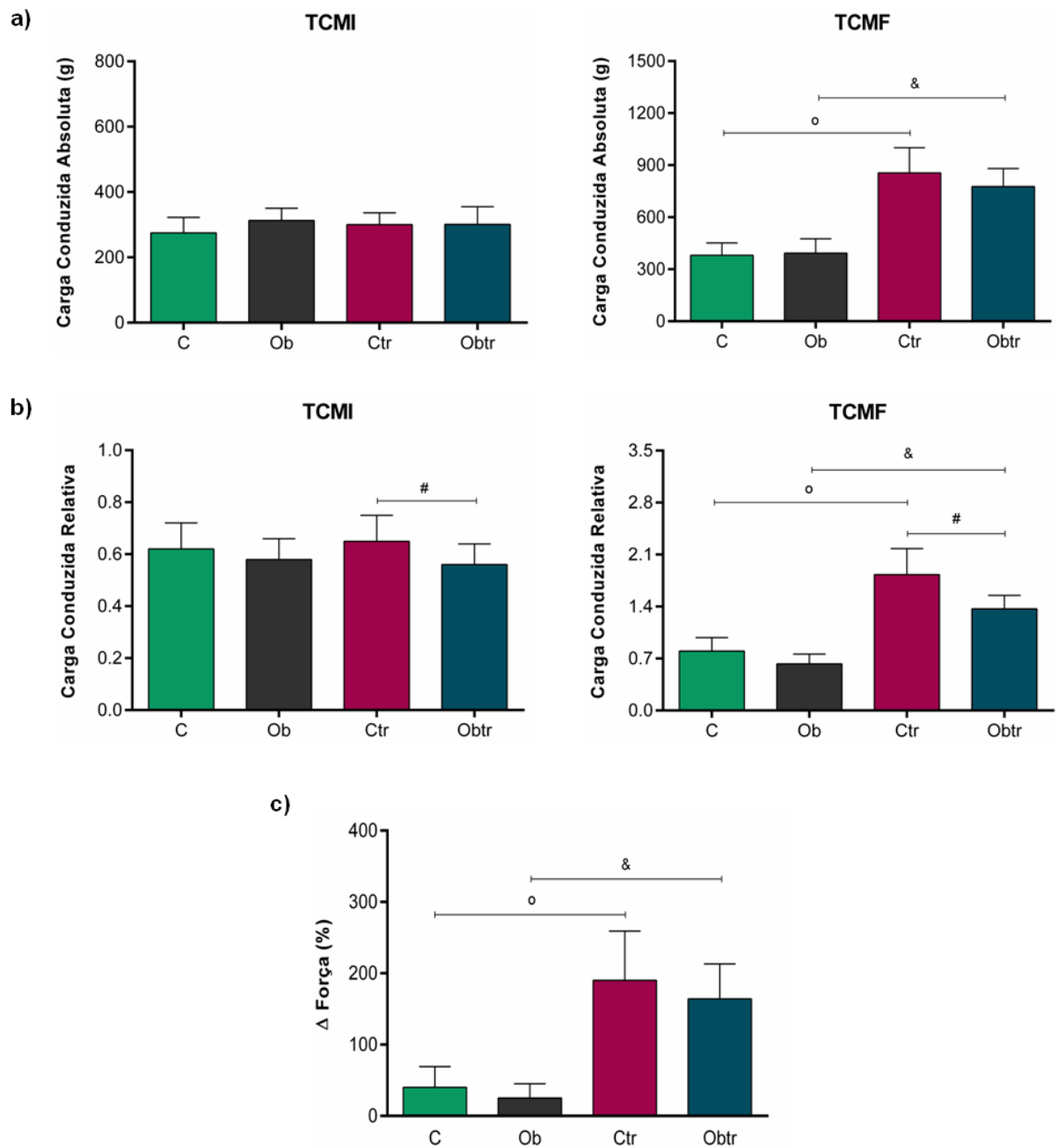


Figura 7. Desempenho dos grupos no Teste de Carga Máxima (TCM) inicial e final. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Grupos C (n=10), Ob (n=9), Ctr (n=11) e Obtr (n=11), n: número total de animais. C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; TCM I: teste de carga máxima inicial; TCM F: teste de carga máxima final. Δ força: delta de força entre os testes inicial e final. $p < 0,05$ - * (Ob vs. C); # (Obtr vs. Ctr); ° (Ctr vs. C); & (Obtr vs. Ob). ANOVA duas vias, complementada com teste *post-hoc* Bonferroni.

Os resultados bioquímicos de glicemia, colesterol total, HDL e TG são apresentados na Tabela 6. Os valores de glicemia de jejum, HDL e colesterol total são semelhantes entre os grupos experimentais. O grupo Ob apresentou maior área sob a curva glicêmica, TG e leptina comparado com seu grupo controle (Ob>C). Em adição, o grupo Obtr apresentou hiperleptinemia frente ao grupo Ctr (Obtr>Ctr,

p=0,003). Em contrapartida, o TR foi capaz de reduzir os valores de TG e leptina do grupo Obtr comparado ao grupo Ob (Obtr<Ob).

Tabela 6. Resultados bioquímicos e hormonais.

Variáveis	Grupos			
	C (n=9)	Ob (n=9)	Ctr (n=9)	Obtr (n=9)
Glicemia (mg/dL)	108,78 ± 6,53	112,67 ± 8,28	99,82 ± 7,55 ^o	105,45 ± 9,81
ASC (mg.h/dL)	220,00 ± 14,95	270,44 ± 55,36*	233,59 ± 36,52	268,55 ± 54,10
Colesterol Total (mg/dL)	66,45 ± 9,10	62,19 ± 6,91	61,18 ± 13,22	54,50 ± 7,53
HDL (mg/dL)	23,30 ± 3,05	25,13 ± 2,04	24,36 ± 3,19	24,65 ± 4,33
Triglicérides (mg/dL)	22,05 ± 5,99	31,22 ± 6,66*	19,55 ± 2,94	19,44 ± 5,23 ^{&}
Leptina (ng/mL)	5,57 ± 2,98	18,99 ± 4,96*	4,77 ± 2,36	11,87 ± 7,03 ^{#&}

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; ASC: área sob a curva glicêmica; HDL: lipoproteína de alta intensidade. p<0,05 - *(Ob vs. C); # (Obtr vs. Ctr); & (Obtr vs. Ob); ^o(Ctr vs. C). ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

O teor de água nos tecidos cardíacos (VE, VD e AT), pulmonar e pancreático, foi semelhante entre os grupos. Entretanto, no tecido hepático a intervenção dietética promoveu menor retenção hídrica no grupo Ob frente ao grupo C (p<0,001). Nos animais treinados, apenas o grupo Obtr apresentou maior teor de água no tecido hepático frente ao grupo Ob (Obtr>Ob, p=0,001) (Tabela 7).

Tabela 7. Teor de água nos tecidos cardíaco, pancreático, pulmonar e hepático.

Variáveis	Grupos			
	C (n=10)	Ob (n=9)	Ctr (n=11)	Obtr (n=11)
VE (%)	74,85 ± 1,04	74,40 ± 1,32	75,24 ± 0,52	74,70 ± 1,30
VD (%)	74,54 ± 1,30	74,49 ± 2,31	74,75 ± 0,19	73,92 ± 1,66
AT (%)	75,91 ± 1,23	75,98 ± 2,94	76,01 ± 1,68	74,36 ± 2,92
Pulmão (%)	77,48 ± 1,08	76,66 ± 1,77	77,73 ± 1,61	77,42 ± 1,36
Fígado (%) [§]	67,90 ± 2,18	65,01 ± 5,15*	67,66 ± 1,29	67,51 ± 6,22 ^{&}
Pâncreas (%) [§]	66,91 ± 4,54	63,19 ± 4,84	64,71 ± 4,70	64,40 ± 6,42

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrios. [§] dados apresentados em mediana ± intervalo interquartil. p<0,05 - *(Ob vs. C); & (Obtr vs. Ob). ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni* para dados de distribuição normal. Para amostras não paramétricas, complementadas com teste *post-hoc Holm-Sidak*.

Os resultados morfológicos cardíacos dos grupos experimentais são apresentados na Tabela 8. As variáveis utilizadas para identificar a remodelação macroscópica não apresentaram diferenças estatísticas, visualizados pelo peso total do coração, VE, VD, AT, tibia e suas respectivas relações com a tibia.

Tabela 8. Resultados morfológicos cardíacos.

Variáveis	Grupos			
	C (n=5)	Ob (n=4)	Ctr (n=4)	Obtr (n=5)
Coração (g)	1,13 ± 0,06	1,21 ± 0,14	1,04 ± 0,19	1,21 ± 0,17
VE (g)	0,83 ± 0,03	0,85 ± 0,13	0,74 ± 0,17	0,88 ± 0,12
VD (g)	0,21 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,23 ± 0,03
AT (g)	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,03
Tíbia (cm)	4,34 ± 0,11	4,38 ± 0,10	4,31 ± 0,15	4,37 ± 0,12
Coração/tíbia (g/cm)	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,28 ± 0,04
VE/tíbia (g/cm)	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,20 ± 0,02
VD/tíbia (g/cm)	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
AT/tíbia (g/cm)	0,023 ± 0,003	0,024 ± 0,003	0,023 ± 0,001	0,024 ± 0,007

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; AT: átrios. $p < 0,05$. ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

Os valores da PA estão apresentados na Tabela 9. As variáveis de PAS, PAD e PAM não foram diferentes estatisticamente entre os grupos.

Tabela 9. Mensuração da pressão arterial.

Variáveis	Grupos			
	C (n= 8)	Ob (n=3)	Ctr (n=9)	Obtr (n=6)
PAS (mmHg)	124 ± 14	129 ± 17	129 ± 17	124 ± 18
PAD (mmHg)	95 ± 13	112 ± 21	104 ± 16	98 ± 21
PAM (mmHg)	105 ± 13	118 ± 20	112 ± 16	106 ± 20

Valores expressos em média ± desvio padrão, n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média. $p < 0,05$. ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

A Figura 8 ilustra os cortes histológicos do VE para mensuração da AST dos miócitos dos grupos C, Ob, Ctr e Obtr. A intervenção dietética e o TR não foram capazes de alterar essa variável ($p=0,34$).

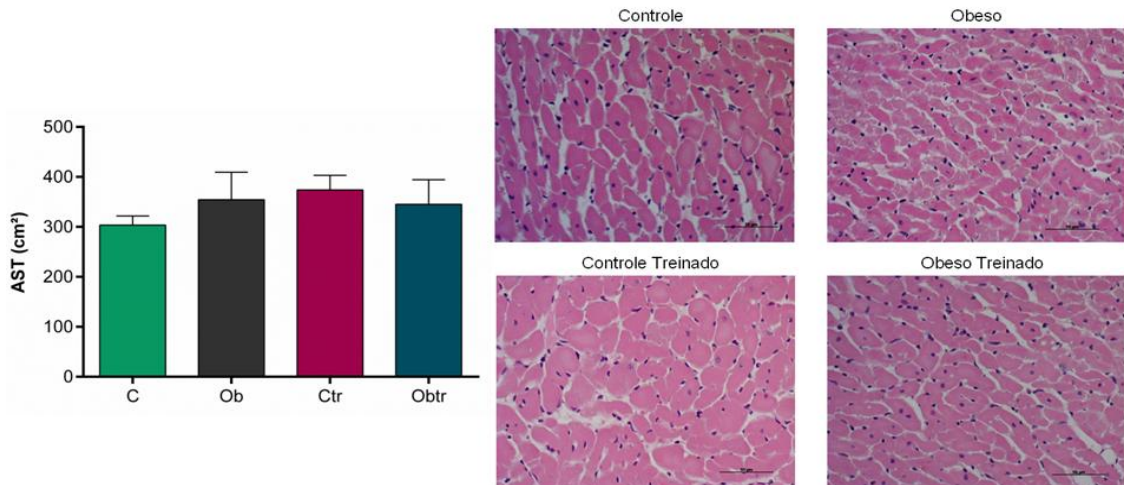


Figura 8. Cortes histológicos do ventrículo esquerdo corados com Hematoxilina-eosina para mensuração da Área Seccional Transversal (AST) do miócito. Valores expressos em média \pm desvio padrão. C (n=5), Ctr (n=4), Ob (n=4) e Obtr (n=5). n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido. $p<0,05$. ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc* Bonferroni.

Para variável de fração de colágeno miocárdico dos grupos experimentais foi observado maior depósito de colágeno no grupo Ob comparado ao grupo C ($Ob>C$, $p<0,001$). Não foi encontrada diferença estatística do grupo Obtr em relação ao grupo Ob na reversão da deposição de colágeno ($p=0,07$) (Figura 9).

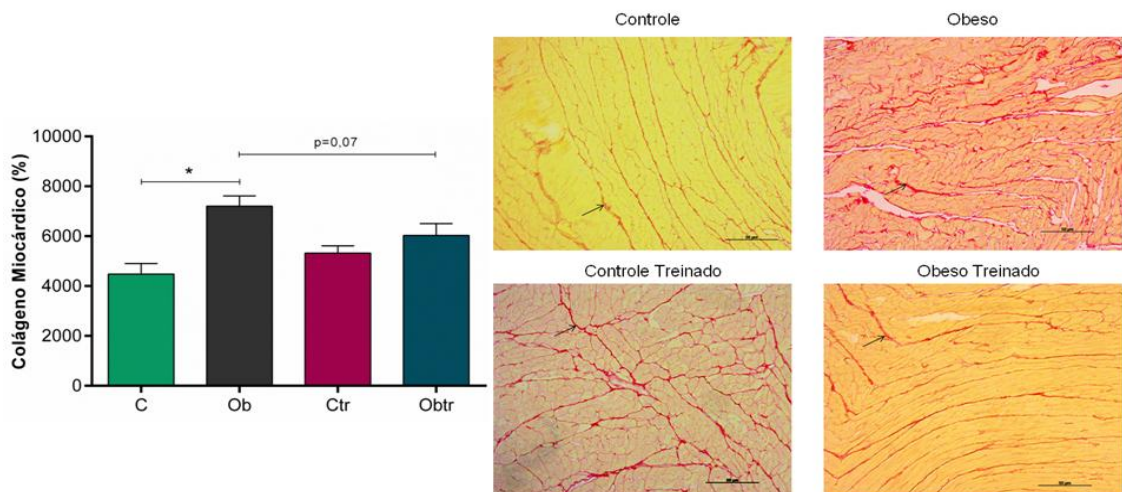


Figura 9. Cortes histológicos do ventrículo esquerdo corados com *Picosirius Red* para mensuração do colágeno miocárdico. Grupos C (n=5), Ob (n=4), Ctr (n=4) e Obtr (n=5). n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido. $p<0,05$ - *(Ob vs. C). ANOVA duas vias complementada com teste *post-hoc* Bonferroni.

A expressão das proteínas de relaxamento relacionadas com o trânsito de Ca^{+2} intracelular miocárdico, SERCA2a, PLB e pPLBser16 normalizadas pela β -actina estão ilustradas na Figura 10. Os níveis de SERCA2a e PLB não sofreram alterações mediante as intervenções dietética e do treinamento. No entanto, foi observada fosforilação reduzida de PLBser16 no grupo Ob e Obtr comparado ao grupos C e Ctr (Ob<C; Obtr<Ctr).

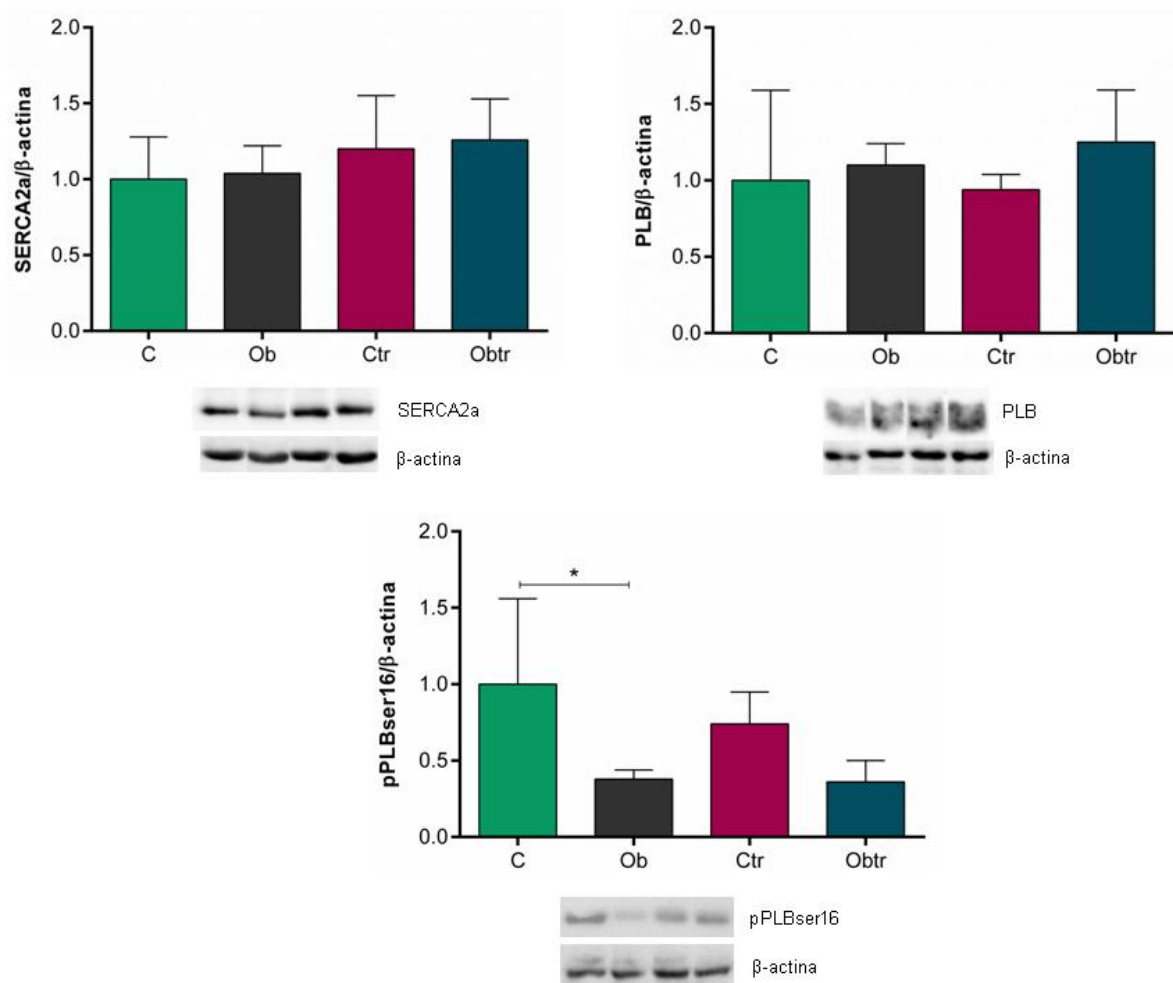


Figura 10. Expressão das proteínas SERCA2a, PLB e pPLBser16 normalizadas pela β -actina. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Grupos C (n=5), Ob (n=3), Ctr (n=4) e Obtr (n=5). n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; SERCA2a: bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático; PLB: fosfolambam; pPLBser16: fosfolambam fosforilada na via serina 16. $p < 0,05$ - *(Ob vs. C). ANOVA duas vias, complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

A Figura 11 ilustra a razão da expressão das proteínas SERCA2a/PLB e pPLBser16/PLB. Não houve diferença entre os grupos na razão SERCA2a/PLB. Em

contrapartida, a razão pPLB/PLB foi menor nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica (Ob;Obtr) comparada aos grupos controles (C;Ctr).

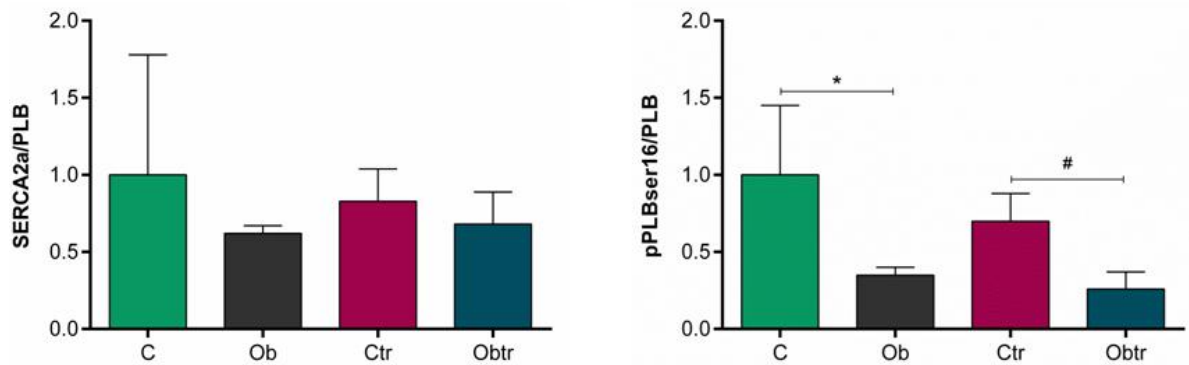


Figura 11. Razão da expressão das proteínas SERCA2a/PLB e pPLBser16/PLB normalizadas pela β -actina. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Grupos C (n=5), Ob (n=3), Ctr (n=4) e Obtr (n=5); n: número total de animais; C: controle; Ob: obeso; Ctr: grupo controle submetido ao treinamento resistido; Obtr: grupo obeso submetido ao treinamento resistido; SERCA2a: bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático; PLB: fosfolambam; pPLBser16: fosfolambam fosforilada na via serina 16. $p < 0,05$ - * (Ob vs. C); # (Obtr vs. Ctr). ANOVA duas vias, complementada com teste *post-hoc Bonferroni*.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do TR na expressão proteica do trânsito de Ca^{+2} intracelular miocárdico de ratos obesos, além disso, analisar os biomarcadores de morbididades associadas à obesidade. O delineamento experimental consistiu inicialmente de dois momentos, indução e exposição à obesidade. Em seguida, os grupos foram randomizados quanto à ausência ou presença de TR, constituindo quatro grupos experimentais: C, Ctr, Ob e Obtr. Os principais achados apontam as comorbidades frequentemente visualizadas na condição de obesidade, hipertrigliceridemia e hiperleptinemia. Além disso, no processo de remodelamento cardíaco, apesar da ausência de hipertrofia, a obesidade acarretou aumento do depósito de colágeno miocárdico e expressão reduzida de pPLBser16, bem como na razão pPLBser16/PLB. As reversões a partir do TR foram expressas pela redução do peso e gordura corporal, índice de adiposidade, e níveis de triglicerídeos e leptina plasmáticos.

Os resultados obtidos a partir desse estudo mostram que o grupo Ob apresentou maior peso corporal comparado ao grupo C durante a segunda semana de protocolo, reiterando a eficiência das dietas hiperlipídicas para induzir animais à obesidade^{93,94}. Outros estudos utilizando modelo de obesidade induzido por dieta hiperlipídica, também encontraram diferença significativa do peso corporal do grupo alimentado com alto teor de gordura em relação ao alimentado com dieta padrão. Entretanto nos artigos citados, o período necessário para indução dos animais à obesidade foi superior aos achados nessa pesquisa^{29,55,95}. Assim, a dieta hiperlipídica utilizada no presente estudo foi suficiente para induzir e manter os animais do grupo Ob com maior peso corporal em relação ao grupo C por todo o protocolo experimental.

A partir da 17^a semana, os grupos foram randomizados em grupos sedentários e submetidos ao TR, condição que modulou o peso corporal do grupo Obtr frente ao grupo Ob (Obtr<Ob) a partir da 24^a semana. Esses achados dialogam com os trabalhos encontrados na literatura que apontam o TR como uma estratégia não farmacológica viável para redução do peso corporal^{49,54,55}. No entanto, outros pesquisadores não observaram redução do peso corporal induzido pelo TR em animais alimentados com dieta hiperlipídica⁹⁶. Essa divergência pode estar relacionada com a intensidade no qual o TR foi aplicado, mostrando dessa forma,

que o TR de alta intensidade, comparado ao de intensidade moderada a baixa, pode ser mais adequado para redução de peso corporal na condição de obesidade.

O exercício físico é capaz de modular mecanismos como o gasto diário de energia, taxa metabólica de repouso e consumo de oxigênio pós-exercício, que quando aumentados, contribuem para a perda de peso corporal⁹⁷. A literatura aponta que a possível explicação para redução de peso corporal induzida pelo TR de alta intensidade, seja pela resposta fisiológica aguda do maior dispêndio de energia durante o exercício e/ou do aumento no consumo de oxigênio pós-exercício, resultando em maior gasto energético durante o exercício propriamente dito e na sua recuperação^{97,98}. Como não foi avaliada a hipertrofia muscular esquelética, não podemos inferir que a redução do peso corporal tenha sido influenciada pelo aumento da taxa metabólica de repouso, mesmo considerando sua contribuição para o emagrecimento. Além disso, em revisão de literatura, Foureaux e colaboradores (2006)⁹⁸ destacam o papel da epinefrina e norepinefrina no aumento da produção de ATP e no consumo de oxigênio, importante mecanismo para aumentar a taxa metabólica pós-exercício.

Dentre as variáveis do perfil nutricional foi possível observar que os grupos possuíram a mesma ingestão alimentar em todos os momentos do estudo. Conseqüentemente, a ingestão calórica dos grupos obesos (Ob;Obtr) foi maior que os grupos controles (C;Ctr), resultado das densidades energéticas das rações ofertadas. Esses achados divergem dos encontrados na literatura, onde o grupo obeso apresenta menor ingestão alimentar comparado ao grupo controle, com conseqüente ingestão calórica semelhante ou superior a depender da densidade energética da ração^{94,99,100}. Parece que a semelhança na ingestão alimentar dos grupos experimentais encontrada no presente estudo, seja decorrente do processo de produção das rações hiperlipídicas, por meio do método de extrusão. Processo conhecido por aumentar a digestibilidade e a palatabilidade da ração em relação ao processo de peletização¹⁰¹.

A capacidade do animal em converter a energia total consumida em ganho de peso corporal, caracterizada como eficiência alimentar, foi maior nos grupos obesos em relação aos grupos controles (Ob>C; Obtr>Ctr). Diversos pesquisadores têm apontado a melhor eficiência das dietas hiperlipídicas contendo 40% ou mais da sua energia proveniente da gordura para induzir à obesidade^{29,102-104}. Ashrafi e colaboradores (2016)¹⁰² mostraram que animais alimentados por 8 semanas com

dieta hiperlipídica contendo 40% da energia de lipídeos, foi capaz de aumentar em 40% o acúmulo de gordura epididimal. Ainda, Ferron e colaboradores (2015)²⁹ alimentaram ratos *Wistar* com dieta hiperlipídica contendo 49% da sua caloria proveniente da gordura e observaram aumento de 97% de gordura corporal, representado pela soma dos depósitos de gordura visceral, retroperitoneal e visceral.

Evidencia-se que elevadas concentrações de lipídios na dieta promovam o aumento da área e do número de adipócitos, respectivamente hipertrofia e hiperplasia, pois o consumo desse macronutriente excede a capacidade do mesmo ser oxidado pelo organismo, desencadeando o processo de lipogênese^{105,106}. Os achados do presente estudo correlacionam-se com os encontrados na literatura, onde a alta ingestão de lipídios pelos grupos obesos (Ob;Obtr) promoveu aumento significativo de gordura epididimal (111%;62%) retroperitoneal (133%;93%), visceral (126%;76%), gordura corporal (133%;77%) e índice de adiposidade (69%;46%) em relação aos grupos alimentados com dieta padrão (C;Ctr). Em contrapartida, ao avaliar o efeito do TR associado à dieta hiperlipídica, foi possível constatar a eficácia desse tipo de treinamento para reduzir a eficiência alimentar concomitante à redução dos depósitos de gordura epididimal (29%) e visceral (27%), gordura corporal (27%) e índice de adiposidade (13%). Outros trabalhos também mostraram o efeito benéfico do TR de alta intensidade em animais alimentados com dieta hiperlipídica por 8 e 12 semanas, visualizado por redução da área dos adipócitos e percentual de gordura corporal^{49,107}.

Considerando a intensidade do treinamento, acredita-se que a redução de gordura corporal e do índice de adiposidade observada no grupo Obtr (Obtr<Ob) seja pelo aumento da atividade das catecolaminas, neurotransmissores importantes na lipólise dos depósitos de gordura¹⁰⁸. Em contrapartida, apenas o depósito de gordura retroperitoneal não sofreu alteração com o TR. A literatura reporta que os depósitos de gordura corporal apresentam comportamento metabólico distintos, evidenciado pela menor expressão dos receptores adrenérgicos β_3 na gordura retroperitoneal¹⁰⁹. Os autores enfatizam que os diferentes depósitos de gordura corporal podem ser mais ou menos susceptíveis às condições de lipólise de acordo com a expressão dos receptores adrenérgicos β_3 . Ademais, como esclarecido por Tchernof e colaboradores (2006)¹¹⁰ a gordura abdominal é mais lipolítica do que a gordura subcutânea, considerando o maior número de receptores β -adrenérgicos nessa região. Outra condição que pode potencializar a lipólise é o aumento da

concentração de catecolaminas após o exercício, resultando em maior sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos¹¹¹⁻¹¹³. Dessa forma, o treinamento intervalado de alta intensidade pode ser determinante na redução dos depósitos de gordura, possivelmente por maior ativação de adrenoceptores¹⁰⁸.

Considerando as análises utilizadas para avaliar o desempenho dos animais no protocolo de TR em escada, os grupos experimentais foram capazes de conduzir a mesma carga no primeiro teste, TCMI, reiterando que os grupos eram homogêneos quanto a capacidade de conduzir a carga pelo aparato de treinamento. O mesmo achado foi encontrado em estudo com desenho experimental semelhante⁹⁶. Todavia, ao normalizar a carga máxima conduzida pelo peso corporal, foi possível observar que o grupo Obtr apresentou menor carga relativa que o grupo Ctr, diferença representada por 13,85% (Obtr<Ctr). Interessantemente, esse achado nos aponta que a condição de obesidade desencadeia funcionalidade reduzida, visto que apesar do maior peso corporal do grupo Obtr, a capacidade de produção de força não foi maior que o grupo Ctr, possivelmente pela grande massa adiposa desse grupo. Em estudo de revisão, Miller e colaboradores (2013)¹¹⁴ destacaram que alterações na composição corporal influenciam a funcionalidade física, podendo resultar em funcionalidade reduzida e incapacidade física. A obesidade, evidenciada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, é uma condição que favorece o desenvolvimento de menor capacidade funcional¹¹⁵⁻¹¹⁷, corroborando aos achados do presente estudo. Bollinger (2017)¹¹⁸ ratificou que na obesidade a força absoluta parece ser maior, entretanto quando a força é normalizada pelo peso corporal, a força muscular relativa é reduzida. Além disso, outros pesquisadores apontaram que na condição de obesidade, a normalização da carga absoluta pelo peso corporal em condições dinâmicas, como o treinamento em escada, representa um indicativo relevante do desempenho funcional^{72,73}.

A carga conduzida absoluta no TCMF e o Δ de força dos testes, foram maiores nos grupos treinados frente aos seus respectivos controles (Ctr>C; Obtr>Ob), reiterando que sessões de TR de alta intensidade possibilitam o desenvolvimento e ganho de força. O ganho de força muscular pode ocorrer por meio das adaptações neurais e/ou estruturais¹¹⁹⁻¹²². As adaptações neurais são caracterizadas pelo desenvolvimento de coordenação intramuscular e intermuscular que permitem maior recrutamento das fibras com conseqüente maior produção de força. As adaptações estruturais são conhecidas pela hipertrofia muscular

esquelética e visualizadas pelo aumento da área seccional transversa e da quantidade de miofibrilas¹²⁰⁻¹²².

A carga relativa no TCMF permaneceu menor no grupo Obtr comparada ao grupo Ctr (Obtr<Ctr); entretanto, nos grupos treinados (Ctr; Obtr) a carga relativa foi superior frente aos grupos sedentários (Ctr>C; Obtr>Ob). Esses resultados evidenciam que os grupos Ctr e Obtr apresentaram maior funcionalidade em decorrência do treinamento. Dados encontrados na literatura indicaram que a prática regular de exercício é capaz de melhorar a força muscular e aptidão física, resultando em melhora na capacidade funcional^{113,123,124}. Ademais, os mesmos pesquisadores acima citados, destacaram que a perda de gordura corporal também pode ser benéfica para a funcionalidade no treinamento, corroborando os resultados do presente estudo.

Dentre os resultados bioquímicos, os níveis de colesterol total e HDL não sofreram alterações em suas concentrações plasmáticas por influência da dieta e do TR. Outro estudo também não encontrou alterações no HDL em animais alimentados com dieta hiperlipídica, bem como nessa condição associada ao TR⁹⁶. Pesquisa com indivíduos obesos submetidos ao TR por 4 semanas não apresentaram alteração da concentração sérica de HDL¹²⁵. Entretanto, o efeito do TR sobre as concentrações de HDL é controverso, visto que demais estudos mostraram que o TR desempenha papel importante no aumento das concentrações dessa lipoproteína^{107,126}. Tseng e colaboradores (2013)¹²⁶ ressaltaram que o TR isolado é capaz de aumentar significativamente os níveis de HDL, porém a associação do TR com o treinamento aeróbio pode potencializar os resultados.

Os resultados de glicemia de jejum divergem de alguns estudos encontrados na literatura, onde o grupo Ob apresenta hiperglicemia^{94,96}. No entanto, ao analisar a área sob a curva glicêmica após sobrecarga de glicose, a obesidade desencadeou intolerância à glicose, assim como observado em outros trabalhos^{17,29,130}, mesmo sem alterar a glicemia de jejum. De acordo com estudos do grupo que avaliaram a mesma condição dietética, os animais são euglicêmicos às custas de hiperinsulinemia^{29,38}. No entanto, no presente trabalho não foi possível quantificar as concentrações plasmáticas de insulina. O TR promoveu a redução dos níveis glicêmicos de jejum apenas no grupo Ctr em relação ao grupo C, não sendo possível observar o mesmo comportamento significativo do treinamento na condição de obesidade (Obtr=Ob; p=0,06).

Além das desordens acima citadas, o modelo de obesidade induzido por dieta apresentou hipertrigliceridemia e hiperleptinemia, comorbidades comumente visualizadas em indivíduos obesos^{131,132}.

O aumento da concentração plasmática de TG no grupo Ob em relação ao grupo C (Ob>C) é frequentemente observada como alteração no perfil lipídico secundária à obesidade^{29,96,133}, sendo relacionado com o alto teor de gordura da dieta ofertada¹³⁴. Além disso, a menor absorção e utilização dos TGs pelos tecidos periféricos favorecem o desenvolvimento de hipertrigliceridemia¹³⁵. Alterações no estilo de vida como mudanças no padrão dietético, prática de exercício físico e perda de peso corporal modulam os níveis de TGs séricos¹³⁶.

Os TGs são estocados nos tecidos como reserva energética. No tecido muscular esquelético, é estocado como triglicerídeos intramusculares que são utilizados durante o exercício¹³⁷. O aumento da concentração sérica de TG desencadeia elevação dos níveis circulantes de VLDL-TG¹³⁸. O VLDL é uma importante lipoproteína de baixa intensidade que tem a função de transportar os TGs circulantes para os tecidos¹³⁷. Vale ressaltar que o padrão alimentar tem grande influência na oxidação lipídica total, enquanto em condição normolipídica as lipoproteínas contribuem em 10%, observa-se aumento para 25% em consumo de dietas hiperlipídicas¹³⁹. Assim, o TG é dissociado das ligações VLDL-TG e hidrolizado por meio das enzimas lipases lipoproteicas específicas (LPLs), encontradas nos tecidos adiposos, músculo esquelético e cardíaco, sendo degradado em ácidos graxos livres para posterior utilização como fonte energética^{137,140}. A atividade das LPLs comporta-se diferentemente em cada tecido¹³⁷. Quando há aporte calórico por meio da alimentação, a atividade das LPLs encontra-se aumentada no tecido adiposo, promovendo lipogênese; em contrapartida, sobre efeito do jejum e do exercício físico, a atividade das LPLs está diminuída no tecido adiposo e aumentada no músculo esquelético¹⁴¹⁻¹⁴³. Ainda, pesquisadores destacaram que a capilarização, capacidade oxidativa e a atividade das LPLs no músculo esquelético são potencializadas pelo treinamento, permitindo que os ácidos graxos obtidos a partir da hidrólise de VLDL-TG sejam mobilizados e utilizados durante e após o exercício^{137,144,145}. Sendo assim, indica-se que a redução significativa de 59% dos níveis séricos de TG no grupo Obtr frente ao grupo Ob (Obtr<Ob) corrobora com os autores acima citados, sugerindo o papel relevante do

treinamento na mobilização do TG circulante para os tecidos periféricos, atendendo as demandas energéticas.

A hiperleptinemia presente nos grupos obesos comparada aos grupos controles é consequência da obesidade, visto que nessa condição os níveis séricos de leptina encontram-se aumentados²⁹. Negrão e colaboradores (2000)¹⁴⁶ destacaram que os níveis de leptina circulantes alteram de acordo com as modulações no peso corporal. Ademais, outros pesquisadores destacaram que a leptina possui correlação significativamente positiva para obesidade e percentual de gordura corporal¹⁴⁷. Os resultados do presente estudo corroboram com os autores acima citados, onde os grupos Ob e Obtr apresentaram maiores valores de gordura corporal e leptina circulantes em relação aos grupos C e Ctr (Ob>C; Obtr>Ctr). Vale destacar que o aumento na concentração sérica de leptina não é proporcional ao aumento dos depósitos de gordura corporal, visto que enquanto a quantidade de gordura corporal dos grupos obesos (Ob;Obtr) aumentou 133% e 77%, os níveis séricos de leptina aumentaram 241% e 135%, respectivamente. Outros autores também apontaram que essa relação não é simétrica ao peso corporal, evidenciada pelas proporções da perda e ganho de peso corporal frente às concentrações de leptina¹⁴⁸. Assim, quando indivíduos obesos reduziram 10% do peso corporal, os níveis de leptina diminuíram 53%. Entretanto, quando a mesma quantidade de perda de peso corporal foi recuperada, a concentração desse hormônio aumentou 300%⁽¹⁴⁸⁾.

Apesar do estado hiperleptinêmico, e importante ação desse hormônio no controle do apetite, foi possível inferir que a condição patológica de obesidade desencadeou resistência à ação da leptina, visualizada pela ingestão alimentar semelhante entre os grupos, mesmo com quantidades aumentadas de gordura corporal e leptina circulantes. A literatura destaca que altas concentrações de leptina, comumente observada na obesidade, podem desencadear resistência à ação desse hormônio, pelo transporte saturável da leptina através da barreira hematoencefálica ou pelo prejuízo na ativação dos receptores de leptina^{149,150}. Nesse contexto, Côté-Daigneault e colaboradores (2015)¹⁴⁹ destacaram que o controle da saciedade na obesidade encontra-se prejudicado corroborando aos dados do presente estudo. Ao avaliar a associação da obesidade com o treinamento foi possível observar redução de 41% da concentração de leptina circulante no grupo Obtr frente o grupo Ob (Obtr<Ob), resultado dos efeitos positivos do TR na

redução do peso e gordura corporal. No entanto, o TR não foi capaz de reverter a condição de resistência à ação da leptina.

A literatura destaca que a obesidade pode desenvolver insuficiência cardíaca¹⁵¹, podendo acarretar retenção hídrica decorrente de insuficiência ventricular esquerda, a qual se manifesta principalmente por congestão pulmonar e, posteriormente, hepática^{83,95,152}. Os tecidos cardíacos, pancreático e pulmonar não sofreram alterações e apresentaram teor de água semelhante entre os grupos experimentais. Para essa mesma variável no tecido hepático os resultados foram divergentes, no qual o grupo Ob possuiu menor percentual de água comparado ao grupo C. Estudos anteriores mostraram que dietas com alto teor de gordura em sua composição provocam esteatose hepática^{153,154}. Picchi e colaboradores (2011)¹⁵⁵ observaram maior depósito de gordura no fígado de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Ainda, em estudo realizado por Gao e colaboradores (2015)¹⁵³, com o mesmo padrão dietético, foi encontrada inflamação crônica do tecido adiposo, com consequente deposição de gordura ectópica no fígado. Dessa forma, sugere-se que o menor teor de água no fígado no presente estudo, seja pelo acúmulo de moléculas de gordura nesse órgão, caracterizando esteatose hepática. Pesquisadores relataram que a lipogênese hepática é mediada pela sensibilidade à ação da insulina, visto que altos níveis circulantes de insulina aumenta a expressão de proteínas reguladoras da lipogênese, desencadeando o aumento de lipídeos intra-hepáticos^{156,157}. Na condição de obesidade e inatividade física, a resistência à ação da insulina seria responsável pelo processo de lipogênese com consequente aumento dos lipídeos intra-hepáticos^{158,159}. Estudos demonstraram que a dieta hiperlipídica à curto prazo desencadeia resistência à ação da insulina intra-hepática, precedendo à resistência periférica na obesidade¹⁶⁰.

O exercício físico é reportado como uma importante estratégia utilizada para diminuir os lipídeos intra-hepáticos^{161,162}. Hallsworth e colaboradores (2011)¹⁵⁹ apontaram que um programa de exercício resistido submáximo, realizado por 8 semanas por pessoas com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) foi capaz de reduzir os lipídeos intra-hepáticos, em decorrência do aumento da oxidação de gordura corporal e sensibilidade da insulina. Ao avaliar o efeito do TR, foi possível observar que o teor de água hepático do grupo Obtr foi semelhante ao grupo Ctr e maior que o grupo Ob, ratificando o efeito benéfico do TR na condição de esteatose hepática decorrente da obesidade. Estudo de revisão realizado por

Hashida e colaboradores (2017)¹⁶³ salienta que o exercício resistido é considerado uma medida relevante e capaz de melhorar a DHGNA por meio da regulação da resistência à insulina. Corroborando, pesquisadores apontaram que o TR foi capaz de aumentar a resposta à ação da insulina sistêmica e intra-hepática^{52,55}. Entretanto os autores afirmam que a melhora da esteatose hepática é pouco eficiente na prática de exercícios de baixa intensidade. Assim, a prática do exercício de resistência de alta intensidade pode resultar em melhora do metabolismo lipídico hepático. Todavia, a análise histológica e condição de resistência à insulina do tecido hepático dos grupos experimentais, metodologia não contemplada no objetivo desse estudo, será avaliada em pesquisas futuras.

Considerando as análises morfológicas cardíacas do peso do coração, VE, VD, átrios, suas relações com o comprimento da tibia e a AST do miócito, não foi possível inferir a presença de remodelação macroscópica ou microscópica, visto que para todas as variáveis não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos sob influência da dieta e/ou do treinamento. Semelhante aos achados do presente estudo, Vileigas e colaboradores (2016)¹⁶⁴ também não observaram adaptações morfológicas cardíacas após 33 semanas de obesidade. O miocárdio é um importante tecido muscular capaz de se modular mediante a sobrecarga ao qual é submetido, seja ela pressórica ou volumétrica e como efeito tende a modificar sua geometria, caracterizando as hipertrofias cardíacas excêntrica e concêntrica de ordem fisiológica ou patológica¹⁶⁵. A hipertrofia cardíaca fisiológica pode ocorrer por meio do estímulo gerado pelo exercício físico resultando em função ventricular normal ou supranormal. Em contrapartida, o mesmo não é visualizado na hipertrofia cardíaca patológica, uma vez que nessa condição a função ventricular encontra-se prejudicada¹⁶⁵. Alguns pesquisadores destacam que a sobrecarga gerada ao coração depende do tipo de treinamento, aeróbico ou anaeróbico¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. Nesse contexto, no exercício de força, como no TR, há o aumento da sobrecarga de pressão ao coração, podendo gerar hipertrofia cardíaca fisiológica¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. Além disso, trabalhos mostram que a condição patológica de obesidade induzida por dieta hiperlipídica pode acarretar hipertrofia cardíaca^{34,94,169}. Entretanto, os dados do presente estudo mostram que não houve remodelação das estruturas do coração a partir da intervenção do treinamento ou da obesidade. Vale salientar que em ambas as condições, não foram observadas sobrecargas pressóricas, evidenciadas pela

pressão arterial sistólica, diastólica e média semelhante entre os grupos experimentais.

Os achados acerca da modulação da PA sobre condição patológica de obesidade ainda são inconclusivos, visto que enquanto alguns pesquisadores identificaram aumento da PA após alimentarem animais com dieta rica em gordura^{170,171}, outros não encontraram modulações nessa variável^{29,94,172}. A literatura tem destacado que a ausência de alterações na PA nos grupos obesos pode ser explicada pela associação da obesidade à hiperleptinemia, visto que quando os níveis de leptina circulantes estão em demasia há aumento da produção de óxido nítrico (ON) endotelial com conseqüente vasodilatação^{84,173}. Embora não investigado diretamente, esses mecanismos podem refletir a resposta normotensiva encontrada nos animais obesos do presente estudo.

Assim como na obesidade, a resposta da PA com o TR é controversa, sendo observada redução ou inalteração da PA. Sousa e colaboradores (2017)¹⁷⁴ em estudo de metanálise apontaram redução da pressão sistólica e diastólica em indivíduos pré e hipertensos submetidos ao TR. Pesquisadores destacaram que a vasodilatação periférica, bem como a menor ativação do sistema nervoso central são fatores que contribuem para a redução da PA¹⁷⁵. Dados encontrados na literatura sugerem ainda que o TR desencadeia aumento do fluxo sanguíneo e do estresse gerado na parede do vaso. Essas adaptações induzidas pelo treinamento permitem maior produção de ON, resultando em vasodilatação e função endotelial melhorada^{176,177}. Em contrapartida, outros autores estudando a condição de TR, não observaram alterações na PA após sessões de TR^{178,179}. Assim, sugere-se que ausência de alteração na PA possa ser conseqüência da melhor resposta vasodilatadora nas condições de obesidade e TR, sugerindo futuros estudos para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos.

Apesar de não ter sido identificado hipertrofia cardíaca nos grupos experimentais, o grupo Ob apresentou maior depósito de colágeno miocárdico, representado pelo aumento de 19% em relação ao grupo C. Dados recentes mostram que ratos geneticamente obesos apresentam maiores depósitos de colágeno miocárdico⁵¹. Além disso, também na obesidade induzida por dieta hiperlipídica, outros pesquisadores apontaram maior fração intersticial de colágeno, corroborando aos achados do presente estudo^{94,180}. Enquanto alguns autores indicaram aumento da degradação de colágeno tipo I induzido pela atividade

aumentada das metaloproteinasas 2 (MMPs-2)^{181,182}, outros pesquisadores apontaram diminuição da atividade das MMPs-2 em animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica¹⁸³. Corroborando com os achados de Redondo (2010)¹⁸³, Martinez-Martinez e colaboradores (2014)¹⁸⁰ evidenciaram maior deposição de colágeno tipo I no coração com consequente nível reduzido de MMP-2 em animais com o mesmo padrão dietético. Esses estudos correlacionaram inversamente a expressão das MMPs-2 com a condição hiperleptinêmica na obesidade. Ainda, a leptina é destacada e correlacionada pelos autores acima citados por sua ação na maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), galectina-3 e fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), os quais contribuem e são mediadores da atividade profibrótica cardíaca, mecanismo representado na Figura 12. Nesse contexto, apesar de não ter sido avaliada a atividade das proteínas profibróticas miocárdicas, sugere-se que os ajustes estruturais visualizados pelo aumento da fração de colágeno intersticial no grupo Ob frente o grupo C, seja desencadeado pela alta concentração de leptina circulante. Além disso, apesar de ausência estatística significativa ($p=0,07$), o TR pode apontar melhora dos níveis de fibrose na obesidade. Desta forma, o estado hiperleptinêmico nos animais obesos e o importante impacto do TR na redução dos níveis de leptina circulantes, pode reforçar o possível papel da leptina na ativação e/ou controle de sinalizadores determinantes da quantidade de matriz extracelular miocárdica.

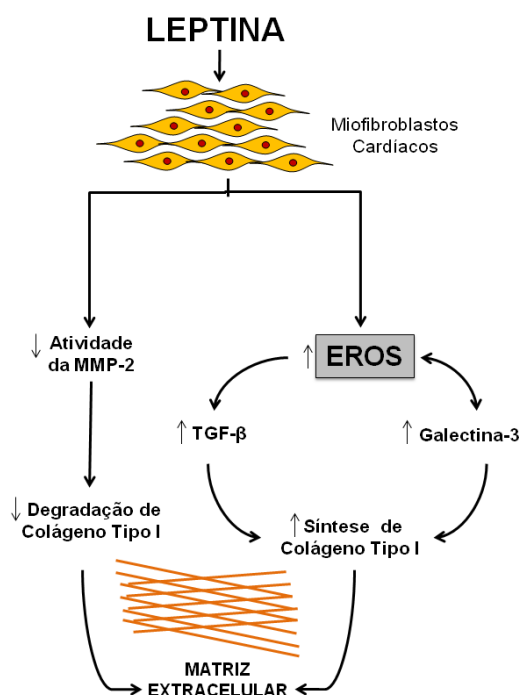


Figura 12. Representação esquemática do papel da leptina na fibrose cardíaca. EROS: espécies reativas de oxigênio; TGF- β : fator de transformação do crescimento beta; MMP-2: metaloproteinasas 2 (Adaptado de MARTINEZ-MARTINEZ, 2013)¹⁸⁴.

O principal objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do TR na expressão proteica do trânsito de Ca^{+2} intracelular miocárdico de ratos obesos, visto que alguns estudos correlacionam a condição de obesidade com prejuízos no desempenho cardíaco em decorrência de alterações das proteínas envolvidas na homeostase desse transiente^{5,17,33}. As proteínas SERCA2a e PLB são destacadas pela importante função de mediar a recaptura de Ca^{+2} para o RS⁴⁴. A SERCA é apresentada em diferentes variações de isoformas a depender do tecido no qual é encontrada¹⁸⁵. De acordo com a literatura, no tecido cardíaco, ela é expressa em SERCA2a¹⁸⁶ e sua atividade e/ou expressão é mediada diretamente por hormônios tireoidianos, insulina, nitrosilação, calmodulina quinase ou indiretamente pela sarcolipina e PLB¹⁸⁷. No presente estudo a expressão de SERCA2a e PLB não sofreram alterações decorrentes da obesidade e do TR. Os dados acima evidenciados corroboram com outros pesquisadores que encontraram resultado semelhante para as mesmas proteínas, após 3 semanas¹⁸⁸ e 15 semanas^{38,46} de exposição à obesidade, sugerindo que a exposição à dieta hiperlipídica a curto e médio prazo não é capaz de alterar a expressão de SERCA2a e PLB, proteínas envolvidas no transiente de Ca^{+2} . Apesar da literatura relatar que o exercício físico favorece o transporte de $\text{Ca}^{+2(189)}$ e o aumento da disponibilidade de Ca^{+2} para contratilidade cardíaca¹⁹⁰, nesse experimento, o TR não modulou a expressão proteica de SERCA2a e PLB. O mesmo comportamento foi visualizado por Junqueira e colaboradores (2016)⁶⁹ avaliando o efeito do TR sobre a expressão gênica de SERCA2a e PLB de ratos *Wistar*.

A PLB regula a atividade da SERCA2a por meio da fosforilação e desfosforilação dos sítios de domínio, que são encontrados na transmembrana e no meio citosólico^{185,191}. Entretanto, nessa pesquisa foi avaliada apenas o sítio de fosforilação na via serina 16, reportada como principal mediadora do efeito positivo na contratilidade cardíaca¹⁹² e prevalente em relação a via treonina 17⁽¹⁹³⁾. Nesse contexto, foi possível observar que a condição obesa por dieta hiperlipídica prejudicou a pPLBser16, representada pela menor expressão dessa proteína no grupo Ob frente ao grupo C (Ob<C), predizendo assim, a menor capacidade miocárdica desse grupo em recapturar os íons Ca^{+2} do meio citosólico para o RS. Os dados acima apresentados corroboram com os achados de Lima-Leopoldo (2014)¹⁷ que identificaram menor expressão de pPLBser16 na condição de obesidade por 30 semanas. Para tanto, foi possível destacar que comparando os

períodos experimentais de Lima-Leopoldo (2014)¹⁷ e do presente estudo (30 vs. 24 semanas), a alteração no trânsito de Ca^{+2} miocárdico representada pela menor expressão de pPLBser16 na obesidade, pôde ser identificada com menor tempo de experimento. Além disso, vale salientar que a expressão reduzida de pPLBser16 acima evidenciada representa uma contribuição para alterações na função diastólica cardíaca¹⁷.

A fosforilação e desfosforilação da PLB na serina 16 é modulada pelo sistema β -adrenérgico, relevante mecanismo regulador da função cardíaca^{46,192,193}. A via β -adrenérgica é composta pelos adrenoreceptores β e alvos relevantes para excitação-contração, como a proteína de ligação ativadora (Gs) e inibitória (Gi), adenilato ciclase (AC), monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) e a proteína quinase A (PKA)^{46,194}. No coração os três tipos de adrenoreceptores β são expressos em diferentes proporções, sendo os receptores $\beta 1$ e $\beta 2$ os mais abundantes¹⁹⁵ e em resposta à um β -agonista, desencadeiam efeitos inotrópicos, cronotrópicos e lusitrópicos positivos no miocárdio¹⁹⁵. A via β -adrenérgica é iniciada no meio extracelular a partir da ligação do agonista adrenérgico ao adrenoreceptor β que está acoplado à proteína Gs⁽²⁹⁾. Esse mecanismo estimula a ativação de AC, que resulta em aumento dos níveis de AMPc¹⁹⁴. Essa cascata, ativa a PKA¹⁹⁶, proteína responsável por fosforilar grupos específicos de serina e treonina¹⁹⁷, às quais modificam a função de proteínas como a PLB¹⁹⁸. Portanto, essa cascata de sinalização permite o aumento da fosforilação da PLB na serina 16, possibilitando maior efluxo de Ca^{+2} para o RS^{37,43} (Figura 13).

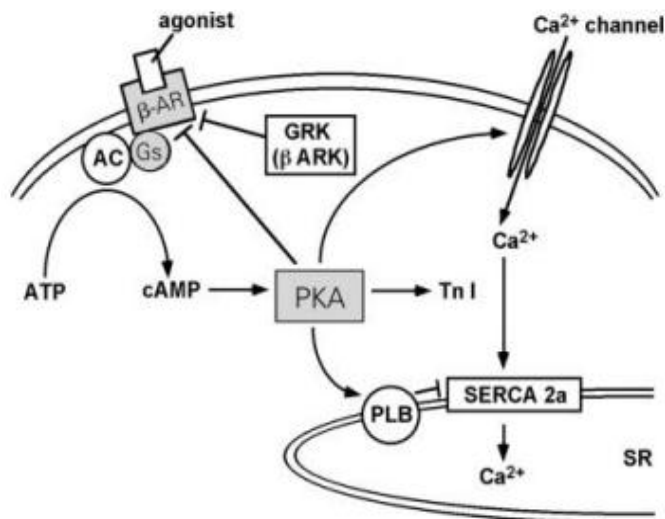


Figura 13. Mecanismo de excitação-contração a partir do receptor β -adrenérgico no coração. β -AR: receptor β -adrenérgico; Gs: proteína de ligação ativadora; GRK (β ARK): quinase de receptores acoplados a proteína G; β ARK: quinase do receptor β -adrenérgico; AC: adenilato ciclase; cAMP: monofosfato cíclico de adenosina; PKA: proteína quinase A; PLB: fosfolamban; Ca^{+2} : íon cálcio (Wallukat, 2002)¹⁹⁹.

Embora a literatura tenha apontado a participação do sistema β -adrenérgico na contratilidade cardíaca, trabalho recente publicado pelo nosso grupo salientou que a função miocárdica de ratos obesos por dieta hiperlipídica permaneceu inalterada após estimulação β -adrenérgica com isoproterenol *in vitro*²⁹. Os autores ressaltam que embora não tenham encontrado prejuízo dos receptores β -adrenérgicos e da proteína G na condição de obesidade, outros componentes da via pós-receptor podem ser responsáveis pela menor fosforilação da pPLBser16, com consequente disfunção miocárdica. Dado recente da literatura indica que o percentual de gordura corporal pode ser inversamente correlacionado com os níveis plasmáticos de adrenalina²⁰⁰, além disso, outro estudo evidenciou que a exposição crônica à obesidade é associada com resistência a catecolamina, condição que reduz a sinalização β -adrenérgica²⁰¹. Ambas condições relatadas pelos pesquisadores podem prejudicar a fosforilação da PBL na serina 16 e serem responsáveis pelo prejuízo diastólico reportado na obesidade^{30,169,202}.

Além das análises de expressão das proteínas totais, foi determinada também a razão entre SERCA2a/PLB e pPLBser16/PLB. A razão SERCA2a/PLB não apresentou diferença estatística entre os grupos experimentais, reiterando que a atividade da SERCA2a modulada pela PLB não foi alterada nos grupos experimentais mediante tratamento dietético e/ou treinamento. Todavia, a razão pPLBser16/PLB foi menor nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica (Ob;Obtr) comparada aos grupos controles (C;Ctr). Esse resultado dialoga com a literatura apontando que a obesidade acarreta danos ao relaxamento cardíaco, uma vez que foi observada redução da pPLBser16 mesmo sem apresentar prejuízos na expressão proteica total de PLB. Como citado anteriormente, a fosforilação da PLB é modulada pela PKA via β -adrenérgica¹⁹⁷ e prejuízos nesse mecanismo de fosforilação de grupos específicos de serina por exemplo, seriam as possíveis causas para os resultados do presente estudo.

O efeito do treinamento na expressão de pPLBser16 ainda não é clara. Exercício aeróbico de baixa intensidade, aplicado por 8 semanas com frequência de 5 dias na semana em modelo experimental animal, resultou em maior fosforilação de PLB na serina 16⁽²⁰³⁾. Em contrapartida, Fernandes e colaboradores (2015)⁶⁸ mostraram que a realização de uma única sessão de TR, representada por 20 séries de 15 repetições do tipo agachamento, com intensidade de 50% 1RM, não altera a expressão de pPLBser16 em ratos. Todavia, de acordo com os dados acima

apontados, vale destacar que os estudos diferem-se quanto ao modelo experimental utilizado, tipo e tempo de protocolo de treinamento, indicando distintos fatores que podem influenciar na avaliação do efeito do treinamento sobre a fosforilação da PLB na serina 16. Assim, futuros estudos são necessários para melhor compreensão sobre a influência do TR e da sua aplicação em diferentes intensidades na funcionalidade cardíaca na condição de obesidade.

5 CONCLUSÃO

O TR não foi capaz de reverter o prejuízo de pPLBser16 na condição de obesidade. Todavia representou um tratamento não farmacológico relevante na melhora da composição corporal e dos biomarcadores da obesidade, expressos pela redução do peso e gordura corporal, índice de adiposidade e níveis de triglicerídeos e leptina plasmáticos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight. Geneva: 2015.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight. Geneva: 2016.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Observatory (GHO) data. Geneva: 2017.
4. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão. **Vigitel Brasil**: 2016.
5. CARVAJAL, K. et al. Ca²⁺ mishandling and cardiac dysfunction in obesity and insulin resistance: Role of oxidative stress. **Cell Calcium**, Amsterdam, v. 56, n. 5, p. 408-415, 2014.
6. COUTINHO, W.; DUALIB, P. Etiologia da Obesidade. **Revista ABESO**, 2007.
7. FRANCISCHI, R. P. P. et al. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p.17-28, 2000.
8. 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.
9. PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P de.; LANCH JR., A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 111-127, 2003.
10. ESCRIVÃO, M. A. M. S. et al. Obesidade exógena na infância e na adolescência. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, 2000.
11. CORSO, A. C. T. et al. Fatores comportamentais associados ao sobrepeso e à obesidade em escolares do Estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Estudos de População**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 117-131, 2012.
12. DANG, M.N.; HASHEM, B.E. The epidemiology of obesity. **Gastroenterology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p. 1-7, 2010.

13. 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.
14. GIELEN, S.; SCHULER, G.; ADAMS, V. Cardiovascular effects of exercise training : molecular mechanisms. **Circulation**, Dallas, v. 122, p. 1221-1238, 2010.
15. TARDIDO, A. P.; FALCÃO, M. C. O impacto da modernização na transição nutricional e obesidade. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 21, n. 2, p. 117-24, 2006.
16. WANDERLEY, E.N.; FERREIRA, V. A. Obesidade: uma perspectiva plural. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 185-194, 2010.
17. LIMA-LEOPOLDO, A. P. et al. 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. 669-678, 2014.
18. RANGEL, L. O. B. et al. Perfil de saúde e nutricional de pacientes portadores de obesidade mórbida candidatos à cirurgia bariátrica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Porto Alegre, v. 22, n. 3, p. 214-219, 2007.
19. GAMI, A. S. et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. **Journal of American College of Cardiology**, v. 49, p.403–414, 2007.
20. HALL, J. E. et al. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. **Circulation Research**, Baltimore, v. 116, n. 6, p.991-1006, 2015.
21. STEIN, C. J.; COLDITZ, G. A. The epidemic of obesity. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 6, p. 2522-2525, 2004.
22. POIRIER, P. et al. Obesity - it must not remain the neglected risk factor in cardiology. **Canadian Journal of Cardiology**, p. 105-108, 2014.
23. ABESO. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Vigitel Brasil**: 2015.

24. BASTIEN, M. et al. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 56, n. 4, p. 369-381, 2014.
25. CLARK, A. L.; FONAROW, G. C.; HORWICH, T. B. Obesity and the obesity paradox in heart failure. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 56, n. 4, p. 409 – 414, 2014.
26. SANTANA, T. da S. **Meio ambiente como determinante da obesidade e fator de risco para doenças cardiovasculares**. Planaltina: DF, 2014.
27. ABEL, E. D.; LITWIN, S. E.; SWEENEY, G. Cardiac remodeling in obesity. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 2, p. 389-419, 2008.
28. ALPERT, M. A. et al. Relation of duration of morbid obesity to left ventricular mass, systolic function, and diastolic filling, and effect of weight loss. **The American Journal of Cardiology**, v. 76, n. 16, p. 1194-1197, 1995.
29. FERRON, A. J. et al. Cardiac dysfunction induced by obesity is not related to β -adrenergic system impairment at the receptor-signalling pathway. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-18, 2015.
30. KARIMIAN, S. et al. Improvement of impaired diastolic left ventricular function after diet-induced weight reduction in severe obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: targets and therapy**, v. 7, n. 10, p. 19-25, 2017.
31. LIMA-LEOPOLDO, A. P. et al. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 97, n. 3, p. 232-240, 2011.
32. PASCUAL, M. et al. Effects of isolated obesity on systolic and diastolic left ventricular function. **Heart**, v. 89, n. 10, p. 1152-1156, 2003.
33. RELLING, D. P. et al. High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of Foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. **Journal of Hypertension**, v. 24, n. 3, p. 549-561, 2006.

34. ZENG, H. et al. High-fat diet induces cardiac remodelling and dysfunction: assessment of the role played by SIRT3 loss. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 20, n. 10, p. 1-10, 2015.
35. LAUER, M. S. The impact of obesity on left ventricular mass and geometry the framingham heart study. **JAMA**, v. 266, n. 2, p. 231–236, 1991.
36. REIS, J. P. et al. Association of the degree of adiposity and duration of obesity with measures of cardiac structure and function: the CARDIA study. **Obesity**, v. 22, n. 11, p. 2434-2440, 2014.
37. BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, v. 415, n. 6868, p. 198-205, 2002.
38. LEOPOLDO, A. S. et al. Involvement of L-type calcium channel and SERCA2A in myocardial dysfunction induced by obesity. **Journal of Cellular Physiology**, v. 226, n. 11, p. 2934-2942, 2011.
39. OPIE, L.H. Myocardial contraction and relaxation. In: OPIE, L. H. **Heart Physiology: From Cell to Circulation**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998. p.209-231.
40. REN, J. et al. High-fat diet-induced leads to resistance to leptin-induced cardiomyocyte contractile response. **Obesity**, v. 16, n. 11, p. 2417-2423, 2008.
41. FABIATTO, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. **American Journal of Physiology**, v. 245, n. 1, p. 1-14, 1983.
42. BERS, D. M. **Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force**. Dordrecht: **Kluwer Academic Publishers**, 2001.
43. MACLENNAN, D. H.; KRANIAS, E. G. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, n. 7, p. 566-77, 2003.
44. KATZ A. M. Excitation-contraction coupling: extracellular and intracellular calcium cycles. In: KATZ, A. M. **Physiology of the heart**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 143-174.

45. BERS, D. M.; DESPA, S. Cardiac Myocytes Ca^{2+} and Na^{+} Regulation in normal and failing hearts. **J Pharmacol Sci**, v. 100, p. 315-322, 2006.
46. FREIRE, P. P. et al. Obesidade não acarreta desequilíbrio entre fosforilação e desfosforilação da fosfolambam miocárdica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 103, n. 1, p. 41-50, 2014.
47. LINZ, D. et al., Cardiac remodeling and myocardial dysfunction in obese spontaneously hypertensive rats. **Journal of Translational Medicine**, v. 10, n. 10, p. 187, 2012.
48. DIRETRIZ DE REABILITAÇÃO CARDÍACA. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 84, n. 5, p. 431-440, 2005.
49. LEITE, D. L. et al. 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 Clinical and Experimental**, p. 1477-1484, 2013.
50. MEDEIROS, C. et al. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. **Journal of Cellular Physiology**, v. 226, n. 3, p. 666-674, 2011.
51. SILVEIRA, A. C. et al. Exercise training restores cardiac microrna-1 and microrna-29c to nonpathological levels in obese rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017.
52. HEIJDEN, G. V der. et al. Strength exercise improves muscle mass and hepatic insulin sensitivity in obese youth. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 11, p. 1973–1980, 2010.
53. PERREAULT, K. et al. Sixteen weeks of resistance training decrease plasma heat shock protein 72 (eHSP72) and increase muscle mass without affecting high sensitivity inflammatory markers' levels in sarcopenic men. **Aging Clin Exp Res**, v. 28, n. 2, p. 207-214, 2016.
54. DE SOUZA, M. R. et al. Effects of aerobic training, resistance training, or combined resistance-aerobic training on the left ventricular myocardium in a rat model. **Microscopy Research and Technique**, v. 77, n. 9, p.727-734, 2014.

55. PANVELOSKI-COSTA, A. C. et al. Treinamento resistido reduz inflamação em músculo esquelético e melhora a sensibilidade à insulina periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 55, n. 2, p. 155-163, 2011.
56. ALVES, J. P. Resistance training improves hemodynamic function, collagen deposition and inflammatory profiles: experimental model of heart failure. **Plos One**, v. 9, n. 10, 2014.
57. FISMAN, E. Z. et al. Comparison of left ventricular function using isometric exercise Doppler echocardiography in competitive runners and weightlifters versus sedentary individuals. **The American Journal of Cardiology**, v. 79, n. 3, p. 355-359, 1997.
58. PAVLIK, G. et al. Echocardiographic characteristics of male athletes of different age. **British Journal of Sports Medicine**, v. 35, n. 2, p. 95-99, 2001.
59. SCHAIBLE, T. F.; SCHEUER, J. Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rats hearts. **Journal of Applied Physiology**, n. 46, p. 854-860, 1979.
60. WISLOFF, U. et al. O. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. **Cardiovascular Research**, v. 50, n. 3, p. 495-508, 2001.
61. AHMADIASL, N. et al. Effect of short- and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 121-128, 2012.
62. GUIZONI, D. M. et al. Effects of late exercise on cardiac remodeling and myocardial calcium handling proteins in rats with moderate and large size myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, v. 15, n. 221, p. 406-412, 2016.
63. GRANS, C. F. et al. Resistance training after myocardial infarction in rats: its role on cardiac and autonomic function. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 103, n. 1, p. 60-68, 2014.
64. MOSTARDA, C. T. et al. Low intensity resistance training improves systolic function and cardiovascular autonomic control in diabetic rats. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 28, n. 3, p. 273-278, 2014.

65. KANAKIS, C.; HICKSON, R. C. Left ventricular responses to a program of lower-limb strength training. **American College of Chest Physicians**, v. 78, n. 4, p. 618-621, 1980.
66. NAYLOR, L. H. et al. Resistance training and diastolic myocardial tissue velocities in obese children. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 40, n. 12, p. 2027-2032, 2008.
67. MELO, S. F. S. et al. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 4, p.6855-6867, 2015.
68. FERNANDES A. A. et al. A single resistance exercise session improves myocardial contractility in spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 9, p. 813-821, 2015.
69. JUNQUEIRA, A. et al. Efeitos do hormônio do crescimento na remodelação cardíaca durante treinamento resistido em ratos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 106, n. 1, p. 18-25, 2016.
70. HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 1, p.16-31, 2004.
71. SOUSA NETO, I. V de. **Efeitos do treinamento de força com diferentes volumes sobre a atividade das metaloproteínas do tipo 2 e 9 na circulação, músculo esquelético e tecido adiposo de ratos**. Brasília: 2017.
72. CAPODAGLIO, P. et al. Strength characterization of knee flexor and extensor muscles in Prader-Willi and obese patients. **BMC Musculoskeletal Disord**, v. 6, n. 10, p. 47, 2009.
73. LAFORTUNA, C. et al. Lower limb alactic anaerobic power output assessed with different techniques in morbidly obese. **J Endocrinol Invest**, 2002, v. 25, p. 134-141, 2002.
74. CANDELORO, J. M.; CAROMANO, F. A. Efeito de um programa de hidroterapia na flexibilidade e na força muscular de idosos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 4, p. 303-309, 2007.

75. COSTA, N. P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Blücher, 2002.
76. PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; FROHLICH, E. D. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 78, n. 6, p. 957-962, 1971.
77. MALKOFF, J. Non-Invasive Blood Pressure for Mice and Rats. **Animal Lab News**, 2005.
78. AIRES, M. de M. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro, 2008.
79. WOODS, S. C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1081-7, 2003.
80. SAKAGUCHI, K. et al. Glucose area under the curve during oral glucose tolerance test as an index of glucose intolerance. **Diabetology International**, v. 7, p. 53-58, 2016.
81. ROLLS, B. J.; SHIDE D. J. The influence of dietary fat on food intake and body weight. **Nutrition Revist**, v. 50, n. 10, p.283-290, 1992.
82. TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389-398, 1996.
83. MOTA, G. A. F. **Influencia do Treinamento Físico Sobre a Função Cardíaca, Proliferação de Cardiomiócitos e Níveis de Angiotensina – (1-7) e do Receptor Mas Miocárdicos em Ratos com Disfunção Ventricular**. Botucatu: 2017.
84. ROCHA, V da. S. **Influência da leptina na reatividade vascular em anéis de aorta de ratos obesos**. Vitória: 2015.
85. BERGER, E. C. M. et al. Renal effects and underlying molecular mechanisms of long-term salt content diets in spontaneously hypertensive rats. **PLOS ONE**, v. 10, n. 10, 2015.

86. MATSUBARA, L. S. et al. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. **American Journal of Physiology: Heart Circulatory Physiology**, v. 279, n. 4, p. 1534-1539, 2000.
89. LATTOUF, R. et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. **J Histochem Cytochem**, v. 62, n. 10, p. 751-758, 2014.
90. DE TOMASI, L. C. et al. Food restriction promotes downregulation of myocardial L-type Ca²⁺ channels. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, n. 6, p. 426-431, 2009.
91. LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem**, v. 193, p. 265, 1951.
92. JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 6. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2007.
93. GAMELIN, F. X. et al. Effects of chronic exercise on the endocannabinoid system in Wistar rats with high-fat diet-induced obesity. **J Physiol Biochem**, v. 72, n. 2, p. 183-199, 2016.
94. MARTINS, F. et al. Dieta hiperlipídica promove remodelação cardíaca em modelo experimental de obesidade. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 5, p. 479-486, 2015.
95. SILVA, V. L da. **Efeito do Treinamento Físico sobre a Função do Canal de Cálcio Tipo L Miocárdico de Ratos Obesos Induzidos por Dieta Hiperlipídica Insaturada**. Vitória: 2015.
96. SPERETTA, G. F. et al. Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. **Life Sciences**, v.146, p. 154–162, 2016.
97. HAUSER, C. et al. Weight loss strategies. **Brazilian Journal of Kinanthropometry and Human Performance**, v. 6, n. 1, p. 72-81, 2006.
98. FOUREAUX, G.; PINTO, K. M de. C.; DAMASO, A. Efeito do consumo excessivo de oxigênio após exercício e da taxa metabólica de repouso no gasto energético. **Rev Bras Med Esporte**, v. 12, n. 6, p. 393-398, 2006.

99. PEREIRA, P. C. **Efeitos da obesidade induzida por dieta sobre a resposta vascular adaptativa ao estresse agudo em ratos**. Botucatu: 2011.
100. VILEIGAS, D. F. **Influência da obesidade induzida por dieta hiperlipídica saturada sobre o comportamento da via beta-adrenérgica miocárdica em ratos Wistar**. Botucatu: 2015.
101. FARIA, H. G de.; STABILLE, S. R. Desempenho de ratos (*Rattus norvegicus*) da) da linhagem Wistar em crescimento alimentados com dietas extrusadas e peletizadas. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v. 29, n. 1, p. 75-79, 2007.
102. ASHRAFI, R. et al. Altered left ventricular ion channel transcriptome in a high-fat-fed rat model of obesity: insight into obesity-induced arrhythmogenesis. **Journal of Obesity**, 2016.
103. SILVA, V. L da. Moderate exercise training does not prevent the reduction in myocardial L-type Ca^{2+} channels protein expression at obese rats. **Physiological Reports**, 2017.
104. GUIBAUDI, L. et al. **Fat** intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. **Obes Res**, v. 10, n. 9, p. 956-963, 2002.
105. DEFRONZO, R. A. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. **Int J Clin Pract Suppl**, n.143, p. 9-21, 2004.
106. ROSADO, E. L.; MONTEIRO, J. B. R. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 145-152, 2001.
107. SPERETTA, G. F. F. et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **CLINICS**, v. 67, n. 12, p. 1469-1477, 2012.
108. BOUTCHER, S. H. High-intensity intermittent exercise and fat loss. **Journal of Obesity**, 2011.
109. COUSIN, B. et al. Adipose tissues from various anatomical sites are characterized by different patterns of gene expression and regulation. **Biochem. J.**, 1993.

110. TCHERNOF, A. et al. Regional differences in adipose tissue metabolism in women minor: effect of obesity and body fat distribution. **Diabetes**, v. 55, p. 1353-1360, 2006.
111. BATAKAN JR, R. B. et al. Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. **J Sports Med**, p. 1–12, 2016.
112. VINCENT, S. et al. Plasma glucose, insulin and catecholamine responses to a Wingate test in physically active women and men. **Eur J Appl Physiol**, v. 91, p. 15–21, 2004.
113. CRAMPES, F. et al. Effect of physical training in humans on the responses of isolated fat cells to epinephrine. **J Appl Physiol**, v. 61, p. 25–29, 1986.
114. MILLER, C. T. et al. The effects of exercise training in addition to energy restriction on functional capacities and body composition in obese adults during weight loss: a systematic review. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, 2013.
115. HIMES, C. L. Obesity, disease, and functional limitation in later life. **Demography**, v. 37, n. 1, p. 73–82, 2000.
116. HULENS, M. et al. Study of differences in peripheral muscle strength of lean versus obese women: an allometric approach. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, p. 676–681, 2001.
117. MAFFIULETTI, N. A. et al. Differences in quadriceps muscle strength and fatigue between lean and obese subjects. **Eur J Appl Physiol**, v. 101, p. 51–59, 2007.
118. BOLLINGER, L. M. Potential contributions of skeletal muscle contractile dysfunction to altered biomechanics in obesity. **Gait & Posture**, v. 56, p. 100-107, 2017.
119. IDE, B. N. et al. Adaptações neurais ao treinamento de força. **Rev. Acta Brasileira do Movimento Humano**, v. 4, n. 5, p. 1-16, 2014.
120. BARROSO, R. Adaptações neurais e morfológicas ao treinamento de força com ações excêntricas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 2, 2005.

121. MAUGHAN, R: **Bioquímica do exercício e treinamento**. São Paulo, ED Manole, 2000.

122. MCARDLE, D, W: **Fisiologia do exercício**. Energia, nutrição e desempenho, Rio de Janeiro, ED Guanabara, 2008.

123. GARBER, C. E. et al. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, p. 1334–1359, 2001.

124. WEINHEIMER, E. M.; SANDS, L. P.; CAMPBELL, W. W. A systematic review of the separate and combined effects of energy restriction and exercise on fat-free mass in middle-aged. **Nutr Rev**, v. 68, n. 7, p. 375-388, 2010.

125. MAHDIREJEI, T. A. et al. A comparative study of the effects of endurance and resistance exercise training on PON1 and lipid profile levels in obese men. **Sport Sci Health**, v. 11, p. 263–270, 2015.

126. TSENG, M. L. et al. A simple method for increasing levels of high-density lipoprotein cholesterol: a pilot study of combination aerobic- and resistance-exercise training. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 23, n. 3, p. 271-281, 2013.

130. FERREIRA, S. R. G. Intolerância à glicose em jovens obesos. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 48, n. 2, p. 94, 2002.

131. LUNA-LUNA, M. et al. Adipose tissue in metabolic syndrome: onset and progression of atherosclerosis. **Archives of Medical Research**, v. 46, n. 5, p. 392-407, 2015.

132. PIRES, A. et al. Pro-inflammatory triggers in childhood obesity: correlation between leptin, adiponectin and high-sensitivity C-reactive protein in a group of obese Portuguese children. **Rev Port Cardiol**, v. 33, n. 11, p. 691-697, 2014.

133. SUBRAMANIAN, S.; CHAIT, A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1821, n. 5, p. 819–825, 2012.

134. YUAN, G. et al. Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. **Canadian Medical Association Journal**, v. 176, n. 8, p. 1113-1120, 2007.

135. CEDDIA, R. B. et al. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. **Diabetologia**, v. 48, p. 132–139, 2005.
136. GERHARD, G. T. et al. Effects of a low-fat diet compared with those of a high-monounsaturated fat diet on body weight, plasma lipids and lipoproteins, and glycemic control in type 2 diabetes. **Am J Clin Nutr**, v. 80, p. 668-673, 2004.
137. NOLAND, R. C. Exercise and Regulation of Lipid Metabolism. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v.135, p. 39-74, 2015.
138. VALAIYAPATHI, B. et al. Approach to hypertriglyceridemia in the pediatric population. **Pediatrics in Review**, v. 38, n. 9, p. 424-434, 2017.
139. HELGE, J. W. et al. Fat utilization during exercise: adaptation to a fat-rich diet increases utilization of plasma fatty acids and very low density lipoprotein-triacylglycerol in humans. **J Physiol**, v. 537, p. 1009–1020, 2001.
140. FREITAS, E. C de. Metabolismo lipídico durante o exercício físico: mobilização do ácido graxo. **Pensar a Prática**, v. 15, n. 3, 2012.
141. LADU, M. J.; KAPSAS, H.; PALMER, W.K. Regulation of lipoprotein lipase in muscle and adipose tissue during exercise. **J Appl Physiol**, v. 71, n. 2, p. 404-409, 1991.
142. KIENS, B.; LITHELL, H. Lipoprotein metabolism influenced by training-induced changes in human skeletal muscle. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 2, p. 558–564, 1989.
143. BOTION, L. M. The influence of fasting/refeeding on the lipoprotein lipase activity of adipose tissue and muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 1411-1414, 2001.
144. MALKOVA, D. et al. Prior exercise and postprandial substrate extraction across the human leg. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 279, p. 1020–1028, 2000.
145. MORIO, B. et al. Increased VLDL-TAG turnover during and after acute moderate-intensity exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 5, p. 801-806, 2004.

146. NEGRÃO, A. B.; LICINIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.
147. AL MASKARI, M. Y.; ALNAQDY, A. A. Correlation between serum leptin levels, body mass index and obesity in omanis. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 6, n. 2, 2006.
148. CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normalweight and obese humans. **N. Engl. J. Med.**, v. 334, p. 292-295, 1996.
149. CÔTÉ-DAIGNEAULT, J. et al. Plasma leptin concentrations and esophageal hypomotility in obese patients. **Can J Gastroenterol Hepatol**, v. 29, n. 1, p. 49-51, 2015.
150. SILVEIRA, M. R. et al., Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, v. 11, n. 4, p. 466-472, 2009.
151. BASTIEN, M. overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. **Progress In Cardiovascular Diseases**, v. 56, p. 369-381, 2014.
152. MONTERA, M. W. et al . II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Aguda. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 93, n. 3, supl. 3, p. 2-65, 2009.
153. GAO, M.; MA, Y.; LIU, D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, 2015.
154. VANSAUN, M. N. et al. High fat diet induced hepatic steatosis establishes a permissive microenvironment for colorectal metastases and promotes primary dysplasia in a murine model. **Am J Pathol**, v. 175, n. 1, p. 355-364, 2009.
155. PICCHI, M. G. et al. A high-fat diet as a model of fatty liver disease in rats. **Acta Cir. Bras.**, v. 26, supl. 2, p. 25-30, 2011.
156. LAVOIE, J.; GAUTHIER, M. Regulation of fat metabolism in the liver: link to non-alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. **Cell Mol Life Sci**, v. 63, n. 12, p. 1393-1409, 2006.

157. TAMURA, Y. et al. Effects of diet and exercise on muscle and liver intracellular lipid contents and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 6, p. 3191-3196, 2005.
158. BHAT, G. et al. Life style modification improves insulin resistance and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **World J. Hepatol.**, v. 4, n. 7, 209–217, 2012.
159. HALLSWORTH, K. et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. **Clinical Science**, v. 129, n. 12, p. 1097–1105, 2015.
160. KIM, S. P. et al. Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. **Diabetes**, v. 52, n. 10, p. 2453–2460, 2003.
161. HANNUKAINEN, J. C. et al. Increased physical activity decreases hepatic free fatty acid uptake: a study in human monozygotic twins. **J Physiol**, v. 578, p. 347–358, 2007.
162. SHOJAEI-MORADIE, F. et al. Exercise training reduces liver fat and increases rates of VLDL clearance but not VLDL production in NAFLD. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 101, n. 11, p. 4219-4228, 2016.
163. HASHIDA, R. et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. **J Hepatol**, v. 66, n. 1, p. 142-152, 2017.
164. VILEIGAS, D. F. et al. Saturated high-fat diet-induced obesity increases adenylate cyclase of myocardial b-adrenergic system and does not compromise cardiac function. **Physiol Rep**, v. 4, n. 17, 2016.
165. ROBERGS, R. A.; ROBERTS, S. O. **Princípios fundamentais de fisiologia do exercício: para aptidão, desempenho e saúde**. São Paulo: Phorte, 2002.
166. FERNANDES, T.; SOCI, U. P. R.; OLIVEIRA, E. M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Braz J Med Biol Res**, v. 44, n. 9, p. 836-847, 2011.

167. MIHL, C.; DASSEN, W. R. M.; KUIPERS, H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. **Neth Heart J**, v. 16, n. 4, p. 129-133, 2008.
168. PLUIM, et al. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**, v. 101, n. 3, p. 336-344, 2000.
169. NGUYEN, S. et al. The effects of fatty acid composition on cardiac hypertrophy and function in mouse models of diet-induced obesity. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 46, p. 137-142, 2017.
170. FERNANDES, R. et al. High fat diet induces hypertension but not vascular and cardiac remodeling in female Dahl sensitive rats. **The FASEB Journal**, v. 31, n. 1, 2017.
171. JAKULJ, F. et al. A high-fat meal increases cardiovascular reactivity to psychological stress in healthy young adults. **J Nutr**, v. 137, n. 4, p. 935-939, 2007.
172. SILVA, D. C. T da. et al. influence of term of exposure to high-fat diet-induced obesity on myocardial collagen type I and III. **Arq Bras Cardiol**, v. 102, n. 2, p. 157-164, 2014.
173. FRUHBECK, G. Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. **Diabetes**, v. 48, n. 4, p. 903-908, 1999.
174. SOUSA, E. C de. et al. Resistance training alone reduces systolic and diastolic blood pressure in prehypertensive and hypertensive individuals: meta-analysis. **Hypertension Research**, p. 1-5, 2017.
175. ROMERO, F. G.; CAPERUTO, E. C.; COSTA ROSA, L. F. B. P. Efeitos de diferentes métodos de exercícios resistidos sobre o comportamento hemodinâmico. **R. bras. Ci e Mov.**, v. 13, n. 2, p. 7-15, 2005.
176. BARAUNA, V. G. et al. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, p. 249-254, 2005.
177. CASEY, D. P. et al. Muscle contraction induced arterial shear stress increases 3 endothelial nitric oxide synthase phosphorylation in humans. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 313, n. 4, p. 854-859, 2017.

178. CARDOSO, C. G. Jr. et al. Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. **Clinics**, v. 65, n. 3, p. 317-325, 2010.
179. GOMES, M. F. P. et al. The effect of physical resistance training on baroreflex sensitivity of hypertensive rats. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 108, n. 6, p. 539-545, 2017.
180. MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E. et al. Leptin induces cardiac fibrosis through galectin-3, mTOR and oxidative stress: potential role in obesity. **J Hypertens**, v. 32, n. 5, p. 1104-1114, 2014.
181. MADANI, S. et al. Direct effects of leptin on size and extracellular matrix components of human pediatric ventricular myocytes. **Cardiovascular Research**, v. 69, n. 3, p. 716-725, 2006.
182. SCHRAM, K. et al. Leptin regulates MMP-2, TIMP-1 and collagen synthesis via p38 MAPK in HL-1 murine cardiomyocytes. **Cell Mol Biol Lett**, v. 15, n. 4, p. 551-563, 2010.
183. REDONDO, I. M. et al. Papel de la leptina en la fibrosis cardiaca asociada a la obesidad en ratas. **Reduca (Recursos Educativos)**, v. 6, n. 4, p. 138-143, 2014.
184. MARTINEZ-MARTINEZ, E. **Papel de la leptina sobre las alteraciones cardiovasculares asociadas a la obesidad: mecanismos implicados**. Madrid: 2014.
185. WUYTACK, F.; RAEYMAEKERS, L.; MISSIAEN, L. Molecular physiology of the SERCA and SPCA pumps. **Cell Calcium**, v. 32, p. 279-305, 2002.
186. BRINI, M.; CARAFOLI, E. Calcium pumps in health and disease. **Physiol Ver**, v. 89, n. 4, p. 1341-1378, 2009.
187. PERIASAMY M., HAKE S. SERCA pump level is a critical determinant of Ca²⁺ homeostasis and cardiac contractility. **J Mol Cell Cardiol**, v. 33, n. 6, p. 1053-1063, 2001.
188. JACOBSEN, B. B. et al. Perfis cardíaco, metabólico e molecular de ratos sedentários no momento inicial da obesidade. **Arq Bras Cardiol**, v. 109, n. 5, p. 432-439, 2017.

189. SORDAHL, L. A. et al. Functions of selected biochemical systems from the exercised-trained dog heart. **J Appl Physiol**, v. 42, p. 426–431, 1977.
190. STUDER, R. et al. Gene expression of the cardiac Na-Ca²⁺ exchanger in end-stage human heart failure. **Circ Res**, v. 75, p. 443–453, 1994.
191. TADA M.; TOYOFUKU T. Molecular regulation of phospholamban function and expression. **Trends Cardiovasc Med**, v. 8, n. 8, p. 330-340, 1998.
192. CARNEIRO JR, M. A. **Efeitos do treinamento físico e do destreinamento sobre propriedades moleculares e mecânicas de cardiomiócitos isolados de ratos normotensos e hipertensos**. Vitória: 2013.
193. CALAGHAN, S. C.; WHITE, E.; COLYER, J. Co-ordinated changes in cAMP, phosphorylated phospholamban, Ca²⁺ and contraction following betaadrenergic stimulation of rat heart. **Pflügers Arch**, v. 436, n. 6, p. 948-956, 1998.
194. BARROS, R de. A.; OKOSHI, M. P.; CICOGNA, C. via beta-adrenérgica em corações normais e hipertrofiados. **Arq Bras Cardiol**, v. 72, n. 5, 1999.
195. LYMPEROPOULOS, A. Physiology and pharmacology of the cardioavascular adrenergic system. **Front Physiol**, v. 4, n. 4, p. 240, 2013.
196. PERIASAMY, M.; BHUPATHY, P.; BABU, G. J. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. **Cardiovascular Research**, v. 77, n. 2, p. 265-273, 2008.
197. SILVA, B. V. et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Quim. Nova**, v.32, n. 2, p. 453-462, 2009.
198. SIMMERMAN, H. K.; JONES, L. R. Phospholamban: protein structure, mechanism of action, and rola in cardiac function. **Physiol Rev**, v. 78, n. 4, p. 921-947, 1998.
199. WALLUKAT, G. The beta-adrenergic receptors. **Herz**, v. 27, n. 7, p. 683-690, 2002.
200. REIMANN, M. et al. Adrenal medullary dysfunction as a feature of obesity. **Int J Obes**, v. 41, n. 5, p. 714-721, 2017.

201. REILLY, S. M.; SALTIEL, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. **Nat Ver Endocrinol**, v. 13, n. 11, p. 633-643, 2017.

202. SARTORI, M. et al. Association between diastolic dysfunction with inflammation and oxidative stress in female ob/ob mice. **Front Physiol**, v. 23, n. 8, 2017.

203. ROLIM, N. P. et al. Exercise training improves the net balance of cardiac Ca²⁺ handling protein expression in heart failure. **Physiol Genomics**, v. 29, n. 3, p. 246-252, 2007.

**ANEXO – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA PRESENTE PESQUISA PELA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (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 nº 6.899, 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