



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Aplicadas



DIEGO GOMES DE MELO

**TREINAMENTO DE FORÇA DE CURTA DURAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES NO
PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ADAPTAÇÕES TERMOGÊNICAS NO TECIDO
ADIPOSO SUBCUTÂNEO DE CAMUNDONGOS OBESOS**

**SHORT-TERM STRENGTH TRAINING INDUCES CHANGES ON FATTY ACIDS
PROFILE AND SLIGHT THERMOGENIC ADAPTATIONS IN THE OBESE MICE
SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE**

LIMEIRA

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Ciências Aplicadas



DIEGO GOMES DE MELO

**TREINAMENTO DE FORÇA DE CURTA DURAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES NO
PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ADAPTAÇÕES TERMOGÊNICAS NO TECIDO
ADIPOSO SUBCUTÂNEO DE CAMUNDONGOS OBESOS**

*Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas como
parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e
Metabolismo na área de Ciências do Esporte*

Orientador: Prof. Dr. Leandro Pereira de Moura

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO DIEGO GOMES DE MELO E ORIENTADA PELO
PROF. DR. LEANDRO PEREIRA DE MOURA

LIMEIRA

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva - CRB 8/9281

M491t Melo, Diego Gomes de, 1989-
Treinamento de força de curta duração induz alterações no perfil de ácidos graxos e adaptações termogênicas no tecido adiposo subcutâneo de camundongos obesos / Diego Gomes de Melo. – Limeira, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Leandro Pereira de Moura.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Exercício de força. 2. Obesidade. 3. Lipogênese. 4. Tecido adiposo. 5. Gordura subcutânea. I. Moura, Leandro Pereira de, 1985-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Short-term strength training induces changes on fatty acids profile and slight thermogenic adaptations in the obese mice subcutaneous adipose tissue

Palavras-chave em inglês:

Strength exercise

Obesity

Lipogenesis

Adipose tissue

Subcutaneous fat

Área de concentração: Ciências do Esporte

Titulação: Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Leandro Pereira de Moura [Orientador]

Carlos Kiyoshi Katashima

Guilherme Morais Puga

Data de defesa: 10-07-2020

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

• ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-1238-2494>

• Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/3933310612376265>

Folha de Aprovação

Autor: Diego Gomes de Melo

Título: TREINAMENTO DE FORÇA DE CURTA DURAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ADAPTAÇÕES TERMOGÊNICAS NO TECIDO ADIPOSEO SUBCUTÂNEO DE CAMUNDONGOS OBESOS

Natureza: Dissertação

Área de Concentração: AA – Ciências do Esporte

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/UNICAMP

Data da Defesa: Limeira-SP, 10 de julho de 2020.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Leandro Pereira de Moura (orientador)

Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/UNICAMP

Prof. Dr. Carlos Kiyoshi Katashima (membro)

Faculdade de Ciências Aplicadas – FCA/UNICAMP

Prof. Dr. Guilherme Moraes Puga (membro externo)

Faculdade de Educação Física e Fisioterapia - UFU

A Ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de fluxo de dissertação/tese e na Secretaria do Programa da unidade.

DEDICATÓRIA

A minha mãe, aquela que foi fundamental nesse processo. Não tenho palavras para expressar o quanto você foi responsável por eu ter chegado até aqui. Muito obrigado por tudo.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe em primeiro lugar, sem sua garra, discernimento e apoio eu jamais pensaria em chegar até aqui. Toda sua luta em silêncio, me fez perceber o quanto é importante fazermos ao invés de jogarmos palavras ao vento. Você sem dúvida tem muita participação em tudo que fiz até hoje, meus mais sinceros agradecimentos.

As minhas irmãs, Karla, Bruna e Jéssica. Vocês me fazem querer ser mais forte a cada dia. Aprendi muito com cada uma de vocês, além disso, foram muito importante pelo apoio e ao me ensinarem a lidar com as incertezas. Enorme muito obrigado a cada uma de vocês.

Ao meu pai, que infelizmente não pode presenciar o fim desse processo. Mas me ensinou coisas valiosas ao longo do tempo. E num momento crucial dessa etapa foi uma pessoa importante ao me incentivar, com palavras e com sua atitude, para que eu continuasse em frente. Onde quer que você esteja, muito obrigado por tudo.

Ao meu orientador professor Leandro Pereira de Moura. Eu agradeço pela oportunidade que me deu em participar dos projetos desenvolvidos e por ter me recebido como aluno. Obrigado por cada conversa, cada conselho e cada incentivo para dar continuidade no processo, estou me tornando um pesquisador melhor a cada dia. Obrigado!

Aos professores do laboratório professores Pauli, Ropelle e Dennys. Sem a ajuda intelectual e amiga de vocês, eu não teria tido a chance de ter sucesso até aqui. Agradeço por cada reunião e cobrança que tive, sem isso eu não teria crescido o tanto que cresci até o momento. Vocês me ajudaram a ser uma pessoa melhor e um pesquisador melhor. Obrigado!

Aos amigos da vila. Claudinho, Diego, João, Lucas, Thiago, Murilo e Matheus. Se o processo foi leve, foi porque vocês estavam ao meu lado. Eu só agradeço por cada risada que damos, por cada conversa jogada fora que temos, isso faz com que o fardo se torne mais leve. Agradeço demais a cada um de vocês.

Aos amigos de grupo. Sem vocês nada disso estaria pronto, vocês fizeram um baita trabalho. Se não fossem Rodrigo, Kellen, Chadi, Raphael e Thais eu não teria conseguido terminar todas às análises e testes que deveriam ter sido feitos. E eu gostaria de agradecer em especial ao Chadi que me ensinou muito sobre o laboratório e a Kellen, que me deu um suporte intelectual enorme. Obrigado a cada um de vocês.

Aos amigos do laboratório. A todos vocês do LABMEX/LABGEN, obrigado pela ajuda, sei que dei um pouco de trabalho e irritação com todas as dúvidas sobre análise, mas hoje nada disso teria

sido feito se não fosse pela colaboração de cada um de vocês. O aprendizado que eu levo é a de que definitivamente ninguém faz nada sozinho, isso só me alegra e faz querer continuar. Obrigado!

Por fim, gostaria de agradecer a agência de fomento Capes. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

*“A melhor coisa que um ser humano pode
fazer é ajudar outro ser humano a saber mais”*

Charlie Munger

RESUMO

A obesidade é um dos fenômenos epidemiológicos da atualidade. Responsável pelo desenvolvimento das doenças crônicas metabólicas. E, além disso, é caracterizada pelo aumento exacerbado do tecido adiposo. E uma maneira possível de diminuir os efeitos deletérios do acúmulo exacerbado de tecido adiposo é o aumento do processo de termogênese, que está relacionado ao aumento da atividade da uncoupling protein-1 (UCP1). Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar a influência do treinamento de força de curto duração (TFCD) nos processos de lipólise, lipogênese e bequeamento do tecido adiposo subcutâneo (TAs) de camundongos obesos. Para isso, foram utilizados camundongos swiss, divididos em três grupos: controle magro (CT), obeso sedentário (OBS) e obeso exercício de força (OBexT). Como desenho experimental, os animais do grupo obeso treinado foram submetidos a sete sessões de exercícios de força. De forma interessante, os resultados demonstraram que sete sessões de exercício de força foram capazes de aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir a glicemia em jejum sem reduzir o peso corporal. No TAs, foi demonstrado que o TFCD não aumentou os níveis de proteínas responsáveis pela lipólise, ABHD5 e PLIN1. Por outro lado, demonstramos que o TFCD diminuiu a expressão de SCD1. Ainda, pudemos observar que TFCD foi capaz de diminuir os níveis do perfil de ácidos graxos de cadeia longa, ácido graxo saturado e ácido graxo palmítico (C16:0) no TAs. Por fim, nosso estudo demonstrou que o treino de força aumentou os genes relacionados ao processo de bequeamento, PRDM16 e UCP1. É importante ressaltar que todos esses mecanismos biomoleculares foram observados independentemente das alterações no peso corporal dos animais. Assim, concluímos que o TFCD pode ser uma estratégia eficaz para os processos de bequeamento do TAs.

Palavras-chave: Bequeamento; exercício de força; obesidade; lipogênese; tecido adiposo subcutâneo.

ABSTRACT

Obesity is a disease characterized by the exacerbated increase of the adipose tissue. A possible way to decrease the harmful effects of the excessive adipose tissue is to increase the thermogenesis process, which is related to the increased activity of UCP1. Thus, the present study aims to investigate the influence of short-term strength training (STST) on fatty acid composition, lipolysis, lipogenesis and browning processes in the subcutaneous adipose tissue (sWAT) of obese mice. For this, Swiss mice were divided into three groups: lean control (CT), obesity sedentary (OBS) and obese strength exercise (OBexT). Obese animals were fed a high-fat diet. Trained obese animals were submitted to seven strength exercise sessions. It was demonstrated that seven strength exercise sessions were able to reduce fasting glycemia. In the sWAT, the STST was able to decrease the levels of the long-chain fatty acids profile, saturated fatty acid, and palmitic fatty acid (C16:0). Moreover, it was showed that STST did not increase protein levels responsible for lipolysis, the ABHD5, and PLIN1. On the other hand, the exercise protocol decreased the expression of the lipogenic enzyme, SCD1. Finally, our study demonstrated that the STST increased genes-related browning process such as PRDM16 and UCP1 in the sWAT. Interestingly, all these biomolecular mechanisms have been observed independently of changes in body weight. Therefore, it is concluded that short-term of strength exercise can be an effective strategy to initiate morphological changes and the browning process in sWAT.

Keywords: Browning; strength exercise; obesity; lipogenesis; subcutaneous adipose tissue.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Genes e sequência de primers utilizado para avaliar o tecido adiposo subcutâneo.....43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Teste fisiológico.....	29
Figura 2 - Resultados da análise por espectrofotômetro.....	30
Figura 3 - Resultados da análise por cromatografia dos ácidos graxos.....	31
Figura 4 - Resultados da análise proteica da via da lipólise.....	32
Figura 5 - Resultados da análise proteica da via da lipogênese.....	33
Figura 6 - Resultados da análise proteica e gênica da via do bequeamento.....	34
Figura 7 - Desenho experimental.....	41
Figura 8 - Conclusão dos resultados.....	55

ABREVIATURAS

DM2.....	Diabetes mellitus tipo II
DCV.....	Doenças cardiovasculares
TAB.....	Tecido adiposo branco
TAs.....	Tecido adiposo subcutâneo
TAM.....	Tecido adiposo marrom
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
IL-6.....	Interleucina-6
IL-1 β	Interleucina-1 beta
NF κ B.....	Nuclear factor kappa B
JNK.....	c-Jun N-terminal kinase
IKK.....	I κ b kinase
CT.....	Controle
OBS.....	Obeso sedentário
OBexT.....	Obeso exercício de força
HFD.....	High fat diet
MVCC.....	Máxima carga de carregamento voluntário
TFCD.....	Treinamento de força de curta duração
HDL.....	High density lipoprotein
LDL.....	Low density lipoprotein
GLUT4.....	Transportador de glicose tipo 4
UCP1.....	Uncoupling protein1
ABHD5.....	Abhydrolase domain containing 5
PLIN1.....	Perilipin 1
ATGL.....	Adipose triglyceride lipase
HSL.....	Hormone sensitive lipase
SCD1.....	Stearoyl-CoA desaturase 1
ACC.....	Acetyl-CoA carboxylase
AMPK.....	Adenosine monophosphate-activated protein kinase
PPAR γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

PRDM16.....	PR-domain containing 16
PGC-1 α	Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma co-ativador
IR.....	Insulin receptor
IRS1/2.....	Insulin receptor substrate 1/2
AMP.....	adenosina monofosfato
ADP.....	adenosina difosfato
ATP.....	adenosina trifosfato
SIRT1.....	Sirtuin1
MGL.....	Monoacylglycerol lipase
ACL.....	Acylglycerol lipase
NADPH.....	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
CO ₂	Dióxido de carbono
H ₂ O.....	Monóxido de dihidrogênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 A obesidade e comorbidades associadas	16
1.2 O processo inflamatório e o tecido adiposo subcutâneo	17
1.3 Lipólise e lipogênese do tecido adiposo	17
1.4 As influências do exercício físico no tecido adiposo	18
1.5 O bequeamento do tecido adiposo branco	20
1.6 O exercício e o bequeamento do adiposo branco	20
2. JUSTIFICATIVA	21
3. HIPÓTESE	23
4. OBJETIVO	24
5. RESULTADOS	25
5.1 Trabalho de mestrado 01	25
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÃO	54
8. REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE	67
APÊNDICE 1: Certificação de curso em manipulação animal	67
APÊNDICE 2: Aprovação comitê de ética de uso animal (CEUA)	68

1. INTRODUÇÃO

1.1 A OBESIDADE E COMORBIDADES ASSOCIADAS

Atualmente, a obesidade afeta diferentes populações em todo o mundo ultrapassando 1bilhão de pessoas acometidas pela doença^{1,2}. Os números também são preocupantes quando se trata de crianças entre 0 a 5 anos que passaram de 32 milhões em 1990 para 41 milhões no número de casos registrados em quadro de sobrepeso e obesidade em 2016^{3,4}. Sabe-se que a obesidade é decorrente de uma má alimentação e do consumo exacerbado de alimentos ricos em gordura trans⁵. E com o consumo sendo maior do que o gasto calórico ocorre a hipertrofia das células adiposas⁶. Esse aumento exacerbado promove o colapso dos sistemas arterial, muscular, hepático e adiposo. Culminando no desenvolvimento de doenças tais como: hipertensão, câncer, doenças metabólicas, doença cardiovascular (DCV) e o Diabetes Mellitus tipo II (DM2)⁷.

As doenças cardiovasculares representam cerca de 17 milhões de mortes ao ano segundo a Organização Mundial de Saúde⁸. E cerca de 5% das causas de morte estão relacionadas diretamente com o sobrepeso e a obesidade⁸. A OMS classifica as doenças cardiovasculares em diferentes grupos, que englobam as doenças coronárias, cerebrovascular, problemas congênitos, doenças arterial periférica, trombose e embolia pulmonar⁹. E a obesidade de forma crônica é um fator preponderante para elevar esses agravamentos à saúde¹⁰. Sendo a principal causa do desenvolvimento da falha cardíaca e fibrilação atrial¹⁰. Além disso, podendo causar danos por ruptura ou formação de coágulos nas artérias do coração, devido ao aumento de ácidos graxos livres na circulação sanguínea e decorrente do aumento no processo inflamatório¹¹.

Além das doenças desenvolvidas a nível macro, o desenvolvimento das doenças associadas à obesidade deve-se a grandes alterações moleculares ocorridas em decorrência do aumento gradativo da massa adiposa¹². Assim, as doenças metabólicas vem apresentando aumento gradual ao longo dos anos¹³. Diferentes estudos demonstram os efeitos deletérios ao sistema circulatório e cardíaco causado pelo aumento exacerbado da liberação de citocinas pró-inflamatórias, levando ao desenvolvimento das doenças autoimunes^{13,14}. Nesse contexto, o tecido adiposo branco (TAB) é um importante órgão endócrino responsável pela liberação de hormônios e de citocinas pró e anti-inflamatórias^{6,7}. E ao se encontrar em um estado inflamatório agudo, o TAB é capaz de secretar elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias na corrente sanguínea, sendo elas: TNF- α , IL-6 e IL-1 β ¹⁵. Esse fenômeno ocasiona o processo de quimiotaxia no tecido adiposo, promovendo a infiltração de macrófagos tipo M1 proporcionando o aumento da liberação de adipocinas pró-inflamatórias¹⁶. Ao se estender de forma crônica, respostas moleculares prejudiciais atingem outras células, além do adipócito, conduzindo a um dos principais efeitos deletérios para o sistema celular,

a redução da comunicação entre insulina e seu receptor de membrana¹⁷. Essa redução, faz com que as proteínas downstream da via da insulina parem de exercer seu papel de ativação do translocador de vesículas que contém o transportador de glicose, GLUT4, para a membrana celular reduzindo a captação de glicose para a célula¹⁸.

1.2 O PROCESSO INFLAMATÓRIO E O TECIDO ADIPOSEO SUBCUTÂNEO

Após a diferenciação de macrófagos, estes passam pelo processo de polarização infiltrando-se no tecido adiposo¹⁹. Em seguida, ocorre o aumento e a sinalização de adipocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6), que são responsáveis pela maior transcrição do fator nuclear- κ B (NF κ B), esse aumento proporciona uma maior ativação das proteínas JNK e IKK no interior da célula adiposa¹⁹. Ao serem ativadas, JNK e IKK atuam promovendo maior sinalização para transcrição de NF κ B, e com isso, ocorre o aumento do processo inflamatório local, que irá resultar na menor propagação de sinal da via da insulina^{20,21}. Como resposta ao aumento do processo inflamatório e bloqueio da sinalização da insulina, uma maior atividade da via da lipólise ocorre no tecido adiposo²². E esse processo quando elevado, resulta na maior liberação de ácidos graxos livres, promovendo à resistência periférica à insulina em outros tecidos (como músculo e fígado)²³. Além de prejudicar a interação do hormônio insulina com o seu receptor (IR) e seu substrato (IRS1/2)^{6,24}. O bloqueio na sinalização resulta na diminuição da ativação da vesícula transportadora de glicose (GLUT-4)²⁵. Com a menor sinalização de GLUT4, menor será a captação de glicose para o meio interno da célula adiposa, diminuindo funções essenciais à manutenção do tecido adiposo, como a sobrevivência e o crescimento celular²⁶.

Esse fenômeno ocorre devido a fosforilação de IRS-1 no seu resíduo serina, que é mediado pela maior ativação de NF κ B, essa ação resulta na menor interação entre insulina e seu receptor de membrana²⁵. Para que esse processo ocorra, é necessário o recrutamento de I κ B (IKK), responsável por atuar tanto na translocação de NF κ B para o núcleo quanto auxiliando na fosforilação do receptor de insulina²⁵. Com o aumento gradual do processo inflamatório, maior será a ativação de IKK exercendo seu papel carreando mais NF κ B para atuar na transcrição de proteínas inflamatórias²⁷. Esse fator é preponderante para o aumento da glicemia sérica²⁸. E o aumento de glicose sanguínea ocasiona no aumento da produção e secreção de insulina com o objetivo de aumentar a captação de glicose pela célula²⁹.

1.3 LIPÓLISE E LIPOGÊNESE DO TECIDO ADIPOSEO

O processo que envolve a lipólise do TAs é complexo e depende da sincronia de diferentes enzimas. E a proteína responsável pelo começo da sinalização é a AMPK³⁰. Iniciando o processo

que irá gerar a quebra de ácidos graxos no tecido adiposo³¹. Então, ao ser fosforilada, a AMPK ativa outras duas proteínas lipases, a *hormone sensitive lipase* (HSL) e a *adipose triglyceride lipase* (ATGL)³². Com a ativação de HSL e ATGL, ocorre, também, a fosforilação de perilipina (PLIN) liberando uma terceira proteína, *abhydrolase domain containing 5* (ABHD5), para atuar na estabilidade da ATGL³³. Quando ABHD5 e ATGL estão associadas, são capazes de promover a redução de triacilglicerol em diacilglicerol, liberando uma molécula de ácido graxo³³. O processo seguinte envolve a ação da HSL, que ao interagir com pPLIN, atua reduzindo diacilglicerol em monoacilglicerol, liberando também uma molécula de ácido graxo³⁴. Por fim, ocorre a atuação da proteína *acylglycerol lipase* (MGL), responsável pelo último processo de redução do triacilglicerol. Reduzindo monoacil em uma molécula de glicerol e ácido graxo³⁵.

Quanto à via da lipogênese, para que a agregação de ácidos graxos ocorra de maneira constante uma maquinaria muito bem regulada é necessária³⁶. Todo o processo se inicia a partir do aumento de citrato no citoplasma da célula³⁷. Com isso, temos a primeira ação da enzima citrato liase (ACL), que atua convertendo citrato em Acetil-CoA, essa reação utiliza uma molécula de ATP e Coenzima-A (CoA-SH)^{37,38}. Como subproduto dessa reação, forma-se Acetil-CoA e oxaloacetato³⁸. Logo em seguida, entre em ação a enzima Acetil-CoA carboxilase (ACC) que converte Acetil-CoA em Malonil-CoA, inserindo um grupamento carbono na molécula e utiliza uma molécula de ATP para tal reação³⁹. Posteriormente temos a diversos ciclos de condensação, redução, desidratação e redução, novamente, para que seja formado um ácidos graxo com uma cadeia de quatro carbonos⁴⁰. Esse processo ocorre no complexo proteico, ácido graxo sintase (FAS), até formar um ácido graxo com a quantidade exata de carbonos necessário a demanda do organismo⁴¹. E durante todo esse processo, ocorre a ação de diferentes enzimas que utilizam ATP, para a primeira reação, e NADPH, na primeira redução dos ácidos graxos⁴¹. Durante toda a reação do ciclo de formação de ácidos graxos, é liberado CO₂, NADP⁺ e H₂O⁴¹.

1.4 AS INFLUÊNCIAS DO EXERCÍCIO FÍSICO NO TECIDO ADIPOSEO

Com o intuito de reduzir os efeitos inflamatórios e aumentar a responsividade entre insulina e seu receptor de membrana, o exercício físico demonstra ser uma importante ferramenta não farmacológica nesse processo⁴². Sabe-se que o exercício aeróbio tem papel fundamental para a saúde metabólica, por aumentar a degradação de ácidos graxos e reduzir a atividade inflamatória⁴³. Ademais, o exercício físico de força também atua colaborando com a redução do tamanho do tecido adiposo (via indireta)^{44,45}. Assim como na redução de adipocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo (via direta), antes que ocorra a redução do tamanho do tecido adiposo^{46,47}. Após a sessão de

exercício físico uma série de proteínas são ativadas, e uma delas é a proteína quinase ativada por AMP (AMPK)⁴⁸.

A AMPK é capaz de controlar a homeostase energética celular, a ativação de PGC-1 α e atuar na diminuição do processo de gliconeogênese e no processo inflamatório⁴⁹. Sua ativação ocorre pelo aumento da razão (AMP/ATP ou ADP/ATP), que resulta em adaptações metabólicas capazes de inibir os processos anabólicos, restaurando assim o equilíbrio energético durante o estresse celular⁵⁰. No tecido adiposo subcutâneo, a AMPK pode controlar o acúmulo de gordura⁵¹, a oxidação de ácidos graxos⁵², bem como o perfil inflamatório⁵³ e, consequentemente, a interação da insulina com seu receptor⁵⁴. Ao ser fosforilada, a AMPK reduz a biogênese de ácidos graxos aumentando a captação de glicose e a oxidação de triacilglicerol, reduzindo assim, o acúmulo de gordura, a sinalização de NF κ B e à resistência à insulina⁵⁵. Os efeitos anti-inflamatórios da AMPK podem ser compartilhados com a ação da SIRT1, já que ambas são capazes de ativar a proteína PGC-1 α ⁵⁶, proteína que tem papel importante regulando a atividade anti-inflamatória e a transcrição mitocondrial⁵⁷⁻⁵⁹.

Sabendo do processo molecular envolvido na quebra de lipídios. Diferentes estudos buscaram demonstrar os efeitos do exercício físico ativando esse conjunto de proteínas^{60,61}. Assim, estudos demonstraram que tanto o treino aeróbio quanto o de força foram bem-sucedidos em aumentar a atividade da pAMPK em animais obesos quando comparado com o grupo sedentário^{58,62}. Por outro lado, o exercício aeróbio agudo não demonstra ter a mesma eficiência no aumento da fosforilação da AMPK no tecido adiposo branco subcutâneo de animais obesos⁶³. Em relação a PLIN, diferentes estudos avaliaram os efeitos do exercício aeróbio crônico na ativação de PLIN1, HSL e ATGL demonstrando aumento na expressão proteica após a realização de exercício^{64,65}. Analisando a capacidade do exercício sobre a proteína ABHD5, é possível observar que o exercício aeróbio e o exercício de força de curta duração não foram capazes de aumentar a transcrição gênica de ABHD5 no tecido adiposo subcutâneo^{66,67}.

Ademais, diferentes estudos buscaram elucidar a influência do exercício no processo de síntese dos ácidos graxos^{55,68}. Então, verificaram o potencial do efeito do exercício aeróbio em reduzir a atividade da enzima ACC, e foi demonstrado que o treino aeróbio crônico foi capaz de reduzir a atividade dessa proteína⁶⁹. Ademais, foi demonstrado que após trinta minutos de treino aeróbio já é possível observar uma potencial redução da atividade da ACC no tecido adiposo⁷⁰. Quanto ao treino de força, foi demonstrado que o exercício de curta duração é capaz de reduzir a atividade de ACC no tecido adiposo de animais obesos^{71,72}.

1.5 O BEGEAMENTO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO

No intuito de compreender como reestabelecer a interação entre insulina e seu receptor, diferentes métodos de pesquisas visaram desenvolver estratégias capazes de tratar a obesidade e suas doenças associadas^{73,74}. Nesse sentido, observaram que o aumento do processo de termogênese é um interessante método para reduzir os efeitos deletérios do acúmulo exacerbado de gordura⁷⁵. E o principal mecanismo envolvido no gasto energético relacionado à termogênese, ocorre devido ao aumento da atividade da *uncoupling protein-1* (UCP1), localizada na parede transmembrana da mitocôndria, no tecido adiposo marrom (TAM) e bege⁷⁶. Sabendo disso, diversos estudos buscaram compreender como ocorre a transcrição do gene UCP1 no tecido adiposo branco^{77,78}. Assim, foi elucidado que a sinalização para transcrição de UCP1 no tecido adiposo branco depende da ação de três principais proteínas, PPAR γ /PGC-1 α /PRDM16⁷⁸. Que juntas, formam o complexo responsável pela transcrição do gene *Ucp1* no tecido adiposo⁷⁸.

Após compreender como ocorre a sinalização molecular para a formação de UCP1, buscou-se identificar quais estímulos, além da indução ao frio, eram responsáveis pelo aumento da proteína^{79,80}. Portanto, diferentes métodos demonstram serem capazes de induzir o aumento da transcrição de UCP1, alguns deles são: farmacológico, estresse, hipotermia e o exercício físico⁸¹. Estes estímulos agem em diferentes tecidos, dentre os quais o tecido adiposo branco⁸². E no tecido adiposo branco, o aumento de UCP1 além de ser capaz de alterar seu processo termogênico, é responsável por promover alterações no fenótipo do adiposo branco^{83,84}. Esse processo molecular é conhecido como begeamento do tecido adiposo branco, e culmina no surgimento de um novo adipócito, o tecido adiposo bege^{78,85}. Além de alterar a característica do adiposo branco, o aumento de UCP1 também promove a alteração da funcionalidade do tecido⁷⁸. Passando então, a atuar de forma semelhante ao adiposo marrom, gerando maior gasto energético e degradação de lipídios devido ao aumento da produção de calor⁷⁸.

1.6 O EXERCÍCIO E O BEGEAMENTO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO

Já é sabido que o exercício é um meio pelo qual pode-se aumentar o gasto calórico e, assim, potencializar a redução da massa adiposa⁸⁶. Sendo um método não farmacológico eficiente e importante para o combate aos males característicos do sobrepeso, obesidade e diabetes^{86,87}. Nesse sentido, estudos demonstram que o treino aeróbio atua positivamente reestabelecendo a captação de glicose pela célula em indivíduos obesos e diabéticos⁸⁸. No que diz respeito ao gasto energético, estudos demonstraram que o treino aeróbio é capaz de aumentar a expressão do gene UCP1, no tecido adiposo subcutâneo, em relação ao grupo de animais sedentários^{89,90}. Segundo Stanford et. al, ao analisar o efeito de onze dias de treino aeróbio, observaram que o treino foi capaz de aumentar a

expressão das proteína PRDM16 e UCP1 no TAs⁹¹. Por fim, Cao et. al avaliaram os efeitos do treino aeróbio, por quatro semanas em camundongos e após às análises foi possível observar que os animais que realizaram o treinamento apresentaram aumento da expressão gênica de PRDM16 e UCP1 no tecido adiposo retroperitoneal quando comparado com o grupo não exercitado⁹². Demonstrando assim, o potencial efeito do exercício aeróbio em aumentar a expressão gênica e proteica responsável pela via do beagamento no tecido adiposo branco.

Além dos efeitos do exercício aeróbio, o treino resistido também demonstra ser uma estratégia interessante para aumentar o processo termogênico no tecido adiposo⁹³. Estudos demonstram que o exercício resistido atua positivamente na expressão das proteínas PPAR γ e PGC-1 α , aumentando seu conteúdo proteico em camundongos treinados^{94,95}. Além disso, foi demonstrado que o treino resistido também é capaz de aumentar a expressão gênica de UCP1 no tecido adiposo subcutâneo de camundongos treinados^{96,97}. Assim, podemos compreender o efeito do treino aeróbio e do treino resistido em aumentar a expressão de UCP1 no tecido adiposo branco, sendo um método não farmacológico atuando no aumento do processo termogênico. Contudo, ainda permanece desconhecido na literatura o potencial efeito do treino de força de curta duração na expressão gênica e proteica de UCP1 e de seu complexo, responsável por promover o beagamento do tecido adiposo subcutâneo.

2. JUSTIFICATIVA

Sob a clareza de tais evidências apresentadas, a obesidade demonstra ser um fator preponderante para o desenvolvimento de diferentes doenças não transmissíveis^{1,2}. Dentre as quais, às doenças crônicas metabólicas¹⁴. No entanto, estudos recentes demonstram que diferentes estratégias são capazes de promover a diferenciação do tecido adiposo branco⁷⁵. Além disso, demonstram, também, ser eficazes em reduzir o processo inflamatório, o acúmulo de gordura e aumentar o gasto calórico⁷⁵.

Nesse sentido, sabe-se que o exercício físico se torna um importante estímulo não farmacológico responsável por gerar adaptações genéticas, fisiológicas e morfológicas, promovendo o aumento da degradação de ácidos graxos estimulado pelo processo termogênico^{91,98}. Além disso, sabe-se que o exercício aeróbio se enquadra como potencial estimulador das proteínas responsáveis pela transcrição de UCP1 no tecido adiposo⁸⁹. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito do exercício de força na indução da alteração do perfil lipídico no TAs e sobre os fatores relacionados ao aumento da expressão de UCP1 no TAs. Portanto, faz-se necessário investigar os efeitos do exercício de força na síntese e degradação de gordura junto ao tecido adiposo subcutâneo. Além disso, é de

extrema importância compreender como o treino de força atua na expressão de UCP1 e das proteínas responsáveis pela sua transcrição no tecido adiposo subcutâneo.

3. HIPÓTESE

Aventamos à hipótese de que o exercício de força de curta duração possa induzir a expressão gênica e proteica de UCP1 no tecido adiposo subcutâneo. Assim, podendo culminar no aumento da degradação de ácidos graxos aumentando a participação das proteínas responsáveis pelo processo da lipólise.

4. OBJETIVO

4.1 Objetivo Geral

- Avaliar se o exercício de força de curta duração estimula o processo de bequeamento do tecido adiposo subcutâneo.
- Analisar os efeitos do treino de força de curta duração na alteração do perfil lipídico, na síntese e degradação de gordura no tecido adiposo subcutâneo.
- Avaliar os efeitos do treinamento de força na expressão gênica de *Ucp1*.

5. RESULTADOS

Trabalho de Mestrado:

Short-term strength training induces changes on fatty acids profile and slight thermogenic adaptations in the subcutaneous adipose tissue of obese mice

Diego Gomes de Melo^{1,2}; Chadi Pellegrini Anaruma^{1,2,3}; Kellen Cristina da Cruz Rodrigues^{1,2}; Rodrigo Martins Pereira^{1,2}; Thais Dantis Pereira de Campos^{1,2}; Raphael Santos Canciglieri^{1,2}; Camila Oliveira Ramos⁴; Dennys Esper Cintra³; Eduardo Rochete Ropelle¹; Adelino Sanchez Ramos da Silva⁵; José Rodrigo Pauli¹; Leandro Pereira de Moura^{1,2}.

1. Exercise Cellular Biology Laboratory, University of Campinas, Limeira, Brazil.

2. Laboratory of Molecular Biology of Exercise, School of Applied Sciences, University of Campinas, Limeira, Brazil.

3. Department of Physical Education, Institute of Biosciences – São Paulo State University (UNESP), Rio Claro, SP, Brazil.

4. Laboratory of Nutritional Genomics, School of Applied Sciences, University of Campinas, Limeira, Brazil.

5. Postgraduate Program in Rehabilitation and Functional Performance, Ribeirão Preto Medical School, USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. School of Physical Education and Sport of Ribeirão Preto, University of São Paulo (USP), Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

Corresponding author: L. P. de Moura, e-mail: mouralp@unicamp.br

ABSTRACT

Obesity is a disease characterized by the exacerbated increase of the adipose tissue. A possible way to decrease the harmful effects of the excessive adipose tissue is to increase the thermogenesis process, which is related to the increased activity of UCP1. Thus, the present study aims to investigate the influence of short-term strength training (STST) on fatty acid composition, lipolysis, lipogenesis and browning processes in the subcutaneous adipose tissue (sWAT) of obese mice. For this, Swiss mice were divided into three groups: lean control (CT), obesity sedentary (OBS) and obese strength exercise (OBexT). Obese animals were fed a high-fat diet. Trained obese animals were submitted to seven strength exercise sessions. It was demonstrated that seven strength exercise sessions were able to reduce fasting glycaemia. In the sWAT, the STST was able to decrease the levels of the long-chain fatty acids profile, saturated fatty acid, and palmitic fatty acid (C16:0). Moreover, it was showed that STST did not increase protein levels responsible for lipolysis, the ABHD5, and PLIN1. On the other hand, the exercise protocol decreased the expression of the lipogenic enzyme, SCD1. Finally, our study demonstrated that the STST increased genes-related browning process such as PRDM16 and UCP1 in the sWAT. Interestingly, all these biomolecular mechanisms have been observed independently of changes in body weight. Therefore, it is

concluded that short-term of strength exercise can be an effective strategy to initiate morphological changes and the browning process in sWAT.

Keywords: Browning; strength exercise; obesity; lipogenesis; subcutaneous adipose tissue.

INTRODUCTION

Obesity is a pandemic condition affecting different populations worldwide, exceeding one billion people^{1,2}. It is a disease characterized mainly by disruption in signaling in the hypothalamus and peripheral tissues, culminating in exacerbated body fat accumulation, by changes on food intake and energy expenditure, which leads to several physiological and molecular disarrangement³. The increment of fatty acids in the adipose tissue exacerbates the subclinical inflammatory process associated to saturated fatty acid intake, leading to the decrease of insulin sensitivity and glucose uptake, which can culminate in diseases such as type 2 diabetes^{4,5}.

In this sense, increasing the thermogenesis process can be a strategy to reduce the harmful effects of adipose tissue accumulation⁶. The main mechanism involved in this thermogenesis process occurs due to increased activity of the uncoupling protein-1 (UCP1), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ), peroxisome proliferator activated receptor gamma-coactivator 1 alpha (PGC-1 α) and PR domain containing 16 (PRDM16) on brown adipose tissue (BAT)^{7,8}. Therefore, due to pharmacological effects, stress, hypothermia, and physical exercise, the subcutaneous white adipose tissue (sWAT) can undergo modifications, such as increasing its UCP1 and PGC-1 α levels and thermogenesis^{9–11}. This molecular process is known as browning of sWAT, and it originates a new adipose tissue, the beige adipose tissue^{12,13}. Originated from white adipose tissue, beige adipose tissue has similar molecular characteristics to BAT¹⁴.

In this sense, knowing molecules that can stimulate mainly UCP1 expression becomes important to increase the range of strategies to fight against obesity and diabetes^{13,15}. According to Syrový and colleagues, the activation of the proteins responsible for transcription of the *Ucp1* gene reduces the Acetyl-CoA carboxylase (ACC) enzyme activities¹⁴. Thus, a mechanism that increases UCP1 expression is capable of promoting the reduction of the ACC protein involved in the lipogenesis process in the liver¹⁶. Furthermore, the expression of UCP1 and browning stimulus in sWAT promotes the decrease of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), insulin resistance and regulates mitochondrial dysfunction¹⁷.

Therefore, knowing non-pharmacological strategies or molecules that stimulate UCP1 increasing is important to increase the basal energy expenditure of obese people¹⁸. Nonetheless, it is well known that aerobic physical exercise is an important non-pharmacological stimulus responsible for generating genetic, physiological, and morphological adaptations, such as increased energy expenditure by increasing the degradation of fatty acids and improving insulin signaling in several tissues^{19–21}. However, little is known about the effect of strength exercise on the induction of factors related to the increase of UCP1 expression in the sWAT.

Moreover, it has been shown that the browning of sWAT is dependent on PPAR γ /PGC-1 α /PRDM complex protein activity leading to increased *Ucp1* gene expression both *in vivo* and *in vitro*²¹. This phenomenon is stimulated by irisin derived from skeletal muscle of chronic animal training (swimming or running exercise) that can increase caloric expenditure and insulin sensitivity^{22,23}. However, the effects of strength exercise, without body weight alterations have not been described in the scientific literature. Therefore, firstly, the present study aims to assess whether short-term strength exercise can stimulate the browning process in subcutaneous adipose tissue. Secondly, to analyze whether there was an alteration in fat synthesis and degradation in this fat tissue. Importantly, all observations will be carried out without interference of body changes.

RESULTS

Strength training and the influence on physiological parameters

Initially, during 14 weeks, the animals were induced to obesity and insulin resistance conditions. After that, the animals of the obese trained group (OBexT) initiated the short-term strength exercise protocol. After 14 weeks on a high-fat diet, obese group demonstrated a series of harmful characteristics resulting from obesity, such as increased body weight (Fig. 1A), hyperglycemia (Fig. 1B), fasting hyperinsulinemia (Fig. 1C) and insulin resistance (Fig. 1D-G). On the other hand, it was shown that this exercise protocol decreased insulin resistance and, as a consequence, decrease both fasting hyperglycemia and hyperinsulinemia. The insulin resistance condition was verified by using the glucose decay curve graph. It was possible to observe that the obese group decreased the rate of glucose uptake after insulin administration and that the short-term strength exercise ameliorated this condition (Fig. 1D-F). As expected, there was no difference in body weight between both obese groups at the end of the study.

***INSERT FIGURE 1**

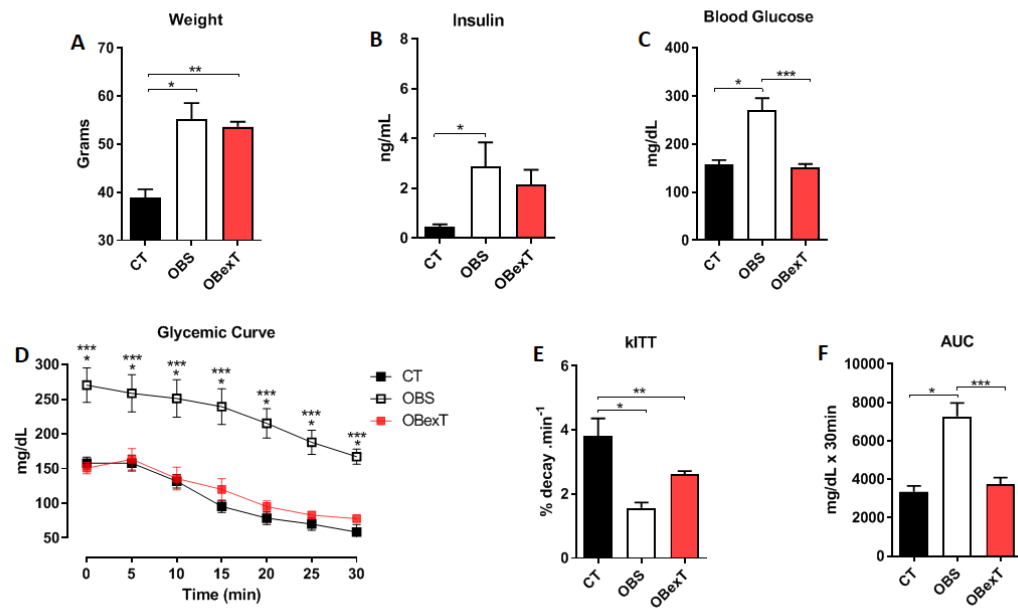


Figure 1. Effect of obesity and strength training on (A) Body weight; (B) Fasting insulin (8 hours); (C) Fasting blood glucose (8 hours); (D) Glycemic curve; (E) kITT; (F) AUC. In figure 1, * $p < 0.05$ CT vs OBS, ** $p < 0.05$ CT vs OBExT and *** $p < 0.05$ OBS vs OBExT ($n = 4$ CT x 5 OBS x 5 OBExT). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by tukey post-test.

Furthermore, it was analyzed the serum lipid profile. Obese animals increased total cholesterol and the physical exercise reduced this parameter (Fig.2A). Ahead, no difference was found serum triglycerides (Fig. 2B) and HDL (Fig. 2C). Moreover, the short-term strength training was able to reduce the LDL cholesterol (Fig. 2D), compared to the sedentary obese.

***INSERT FIGURE 2**

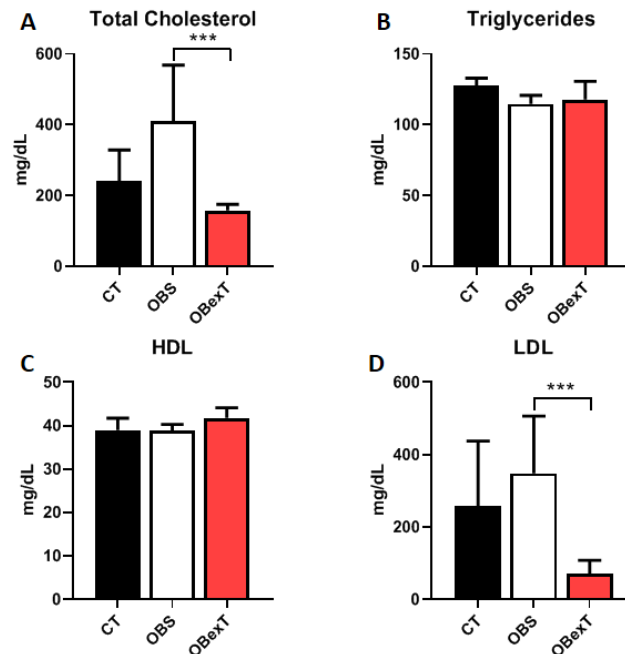


Figure 2. Effect of obesity and strength training on (A) Total Cholesterol; (B) Triglycerides; (C) High Density Lipoproteins (HDL); (D) Low Density Lipoproteins (LDL) levels in control, obese and trained obese animals. Values of LDL were estimated according to the Friedewald formula. In figure 2, * $p < 0.05$ CT vs OBS, ** $p < 0.05$ CT vs OBExT and *** $p < 0.05$ OBS vs OBExT ($n = 4$ CT x 5 OBS x 5 OBExT). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by bonferroni post-test.

The subcutaneous adipose tissue fatty acids profile

To assess the more accurated fatty acid profile in the sWAT, it was carried out the gas-chromatography technique acoupled to mass-spectrometer to understand the modulation of the lipid profile of sWAT induced by obesity and short-term strength exercise. It was observed that obesity increased the amount of total saturated and monounsaturated fatty acid, while short-term strength exercise decreased it significantly. On the other hand, the total polyunsaturated fatty acids was reduced by the obesity and even more by the short-term strength exercise. When it was stratified each fatty acid component, the obesity increased significantly palmitic (C16:0) and stearic (C18:0) fatty acids, while short-term strength exercise significantly decreased it. As expected, due to high-fat diet, obesity increased oleic fatty acid (C18:1) and it was not changed by the short-term strength exercise. The omega 6 and omega 3, such as linoleic (C18:2) and alpha-linolenic (C18:3) fatty acids respectively, were reduced significantly by obesity and even more reduced by the short-term strength exercise. Other fatty acids such as mirystic (C14:0), palmitoleic (C16:1) or eicosanoic (C20:1), did not was changed by treatments (Fig. 3A-K).

***INSERT FIGURE 3**

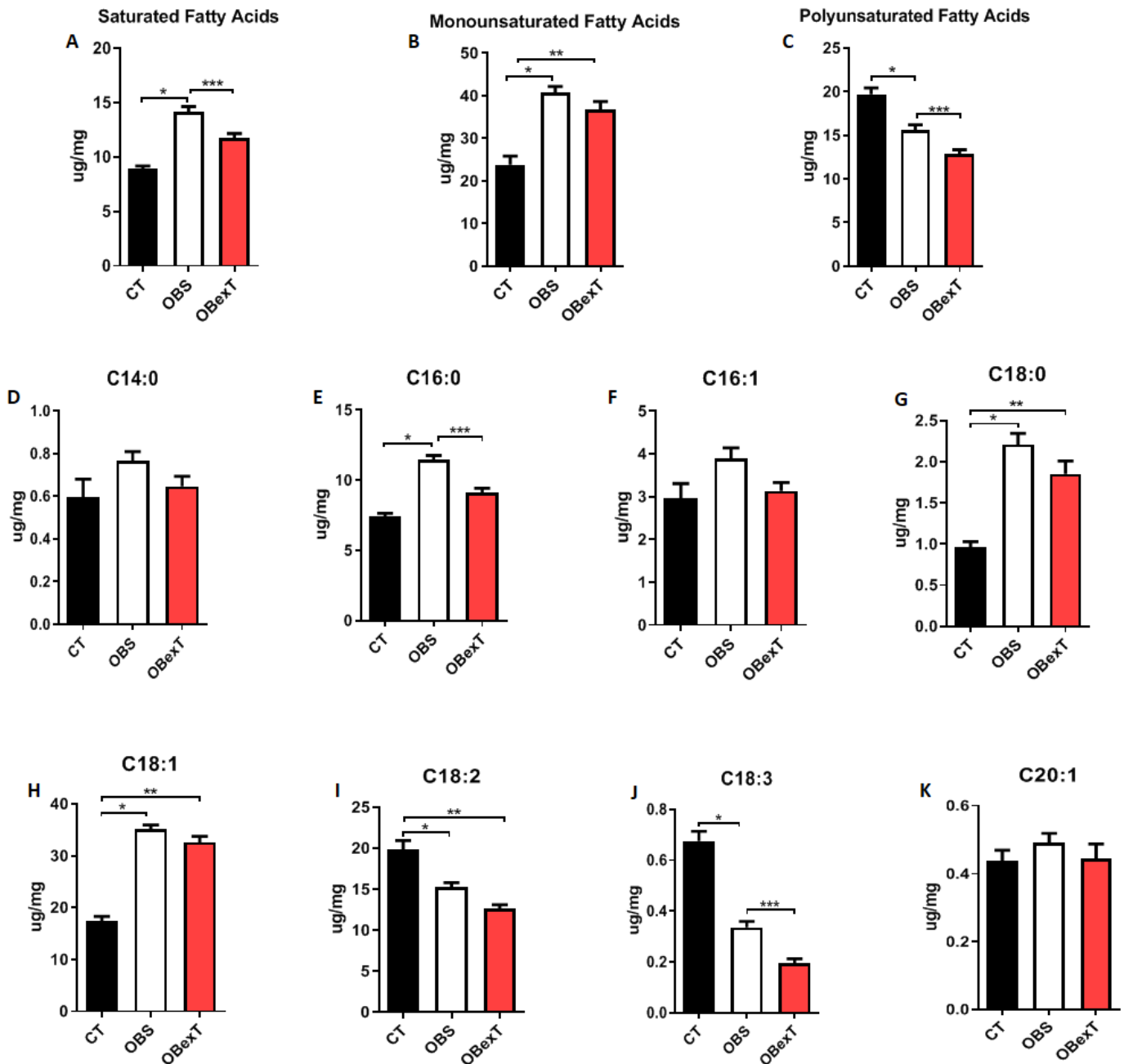


Figure 3. Subcutaneous adipose tissue fatty acids profile. (A) Total saturated fatty acids; (B) Total monounsaturated fatty acids; (C) Total polyunsaturated fatty acids; (D) Myristic fatty acids (C14:0); (E) Palmitic fatty acids (C16:0); (F) Palmitoleic fatty acids (C16:1); (G) Stearic fatty acids (C18:0); (H) Oleic fatty acids (C18:1); (I) Linoleic fatty acids (C18:2); (J) α -Linolenic fatty acids (C18:3); (K) Eicosanoic fatty acids (C20:1). The bar charts represent the means and mean standard error (SD) of each experimental group. In figure 3, * $p < 0.05$ CT vs OBS, ** $p < 0.05$ CT vs OBExT and *** $p < 0.05$ OBS vs OBExT ($n = 6$ CT $\times$ 7 OBS $\times$ 7 OBExT). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by bonferroni post-test.

Short-term strength training and its influence on the lipolysis pathway

After the experimental period, the subcutaneous adipose tissue was removed to analyze the lipolysis pathways (Fig. 4A). Regarding lipolytic activities, it was possible to observe that both obesity and exercise groups did not alter the ABHD5 levels (Fig. 4B). However, when the pPLIN1 was evaluated, it was shown that obesity reduced pPLIN1 levels and that the seven sessions of exercise were not effective in reversing this parameter (Fig. 4C). Moreover, when the pAMPK was analyzed, it was shown that obesity increased its levels and that the short-term exercise was not effective in reversing this parameter (Fig. 4D).

*INSERT FIGURE 4

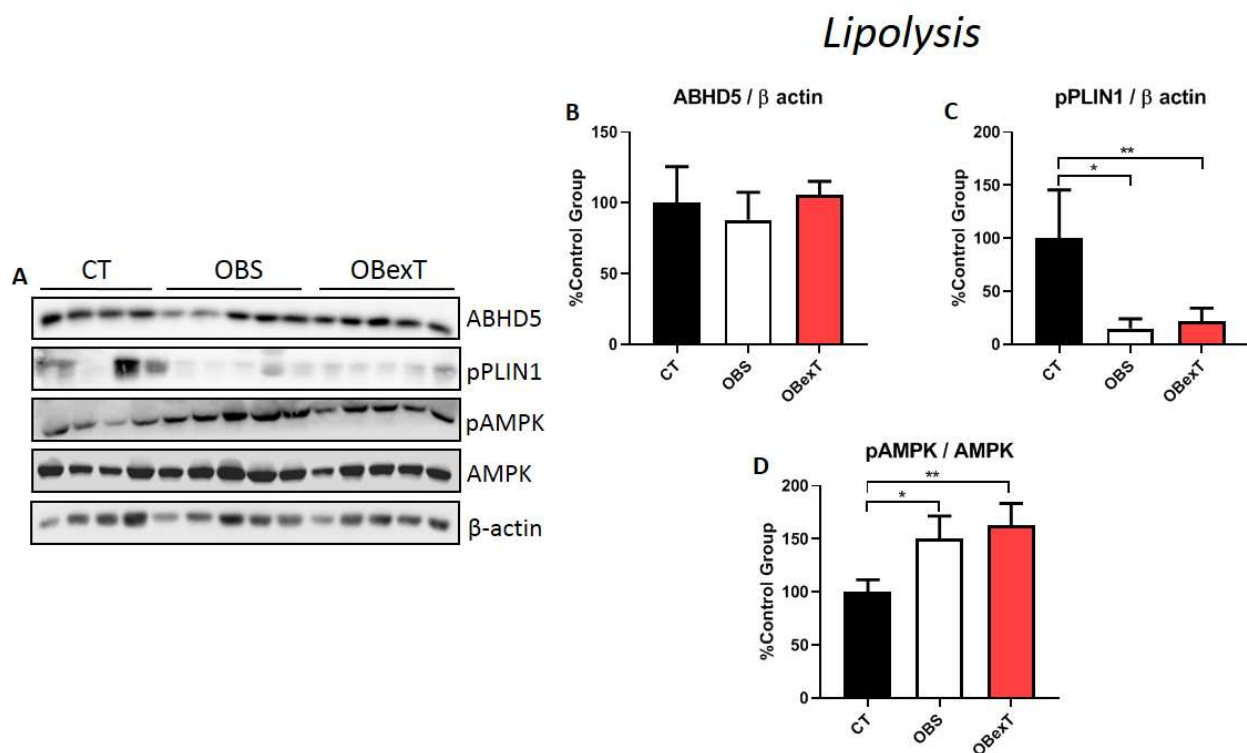


Figure 4. Total protein extract obtained from the subcutaneous adipose tissue was used to Western Blotting experiments (A). The protein content of, (B) ABHD5; (C) pPLIN1ser497; (D) pAMPKser172. The bar charts represent the means and mean standard error (SD) of each experimental group. The bars were relativized by the CT group (100%). In figure 4, *p < 0.05 CT vs OBS, **p < 0.05 CT vs OBExT and ***p < 0.05 OBS vs OBExT (n = 4 CT x 5 OBS x 5 OBExT). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by tukey post-test.

Short-term strength training and its influence on the lipogenesis pathway

In figure 5, it was observed the influence of obesity and strength training on the proteins responsible for lipogenesis in sWAT (Fig. 5A). It was possible to observe that all groups did not show any difference in pACC (Fig. 5B). However, when the levels of SCD1 were analyzed (Fig. C), it was observed that the sedentary obese group increase its levels when compare to lean

control. Also, it was shown that after seven strength exercise sessions the levels of SCD1 reached the control level, showing efficient effects of short-term strength exercise in reducing its levels.

***INSERT FIGURE 5**

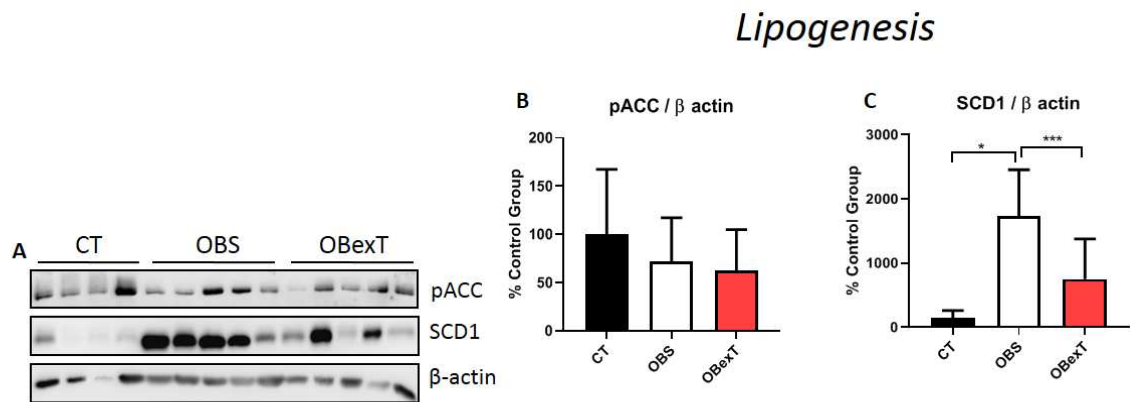


Figure 5. Total protein extract obtained from the sWAT was used to Western Blotting experiments. (A) The protein content of, (B) pACCser79; (C) SCD1. The bar charts represent the means and mean standard error (SD) of each experimental group. The bars were relativized by the CT group (100%). In figure 5, * $p < 0.05$ CT vs OBS, ** $p < 0.05$ CT vs OBExT and *** $p < 0.05$ OBS vs OBExT ($n = 4$ CT x 5 OBS x 5 OBExT). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by tukey post-test.

Short-term strength training and its influence on browning of sWAT

In addition, it was evaluated the genes and proteins responsible for the browning of sWAT. Firstly, it was measured PPAR γ metabolism. It was possible to observe that the sedentary obese group showed a significant increase in this gene compared to the control. However, after short-term strength exercise, its gene levels decreased (Fig. 6F). When the total PPAR γ was analyzed, it was observed that both obese groups increased its levels when compared to the control group, however, no exercise effects were observed (Fig. 6B). Secondly, when PGC-1 α gene and its total protein levels were analyzed, it was not possible to identify any difference between all groups (Fig. 6C and 6F). Thirdly, the sedentary obese group showed no difference in PRDM16 content in relation to the control group. However, it was possible to observe that the trained animals increased the *Prdm16* gene-level when compared to the CT and obese groups (Fig. 6F). Subsequently, analyzing PRDM16 protein, no difference was found between lean and obese groups. However, after performing strength exercise, obese animals increased its levels when they were compared to lean mice (Fig. 6D). Ultimately, the sedentary obese group showed no difference in UCP1 gene and protein content compared to the control group. However, when the trained animals were observed, short-term strength training was able to increase the *Ucp1* gene-level compared to the obese group (Fig. 6F). However, no differences were found in UCP1 protein levels for all groups (Fig. 6E).

***INSERT FIGURE 6**

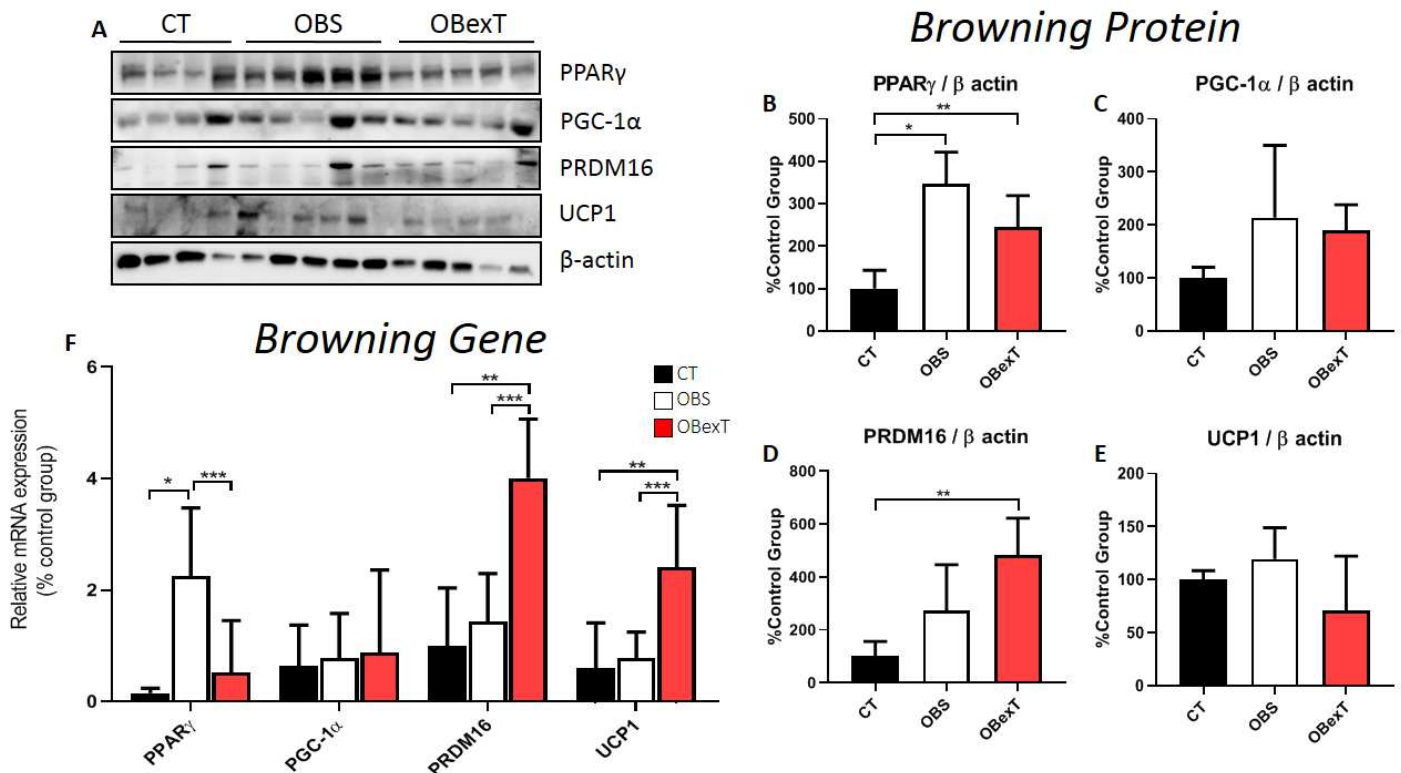


Figure 6. Total protein extract obtained from the subcutaneous adipose tissue was used to Western Blotting experiments. (A) The protein content of, (B) PPAR γ ; (C) PGC-1 α ; (D) PRDM16; (E) UCP1. The bars were relativized by the CT group (100%). In figure 6, * p < 0.05 CT vs OBS, ** p < 0.05 CT vs OBExT and *** p < 0.05 OBS vs OBExT (n = 4 CT x 5 OBS x 5 OBExT). In (F), Effect of strength training protocols on the induction of mRNA expression of genes involved in browning subcutaneous adipose tissue. Representative analysis in control, obese sedentary and obese training swiss animals. Gene expression analysis of *Ppar γ* , *Pgc-1 α* , *Prdm16*, and *Ucp1* (n = 6 CT x 4 OBS x 4 OBExT) each). In graph (F), * p < 0.05 CT vs OBS, ** p < 0.05 CT vs OBExT and *** p < 0.05 OBS vs OBExT (n = 7 per group). One-way ANOVA statistical analysis was used, followed by tukey post-test.

DISCUSSION

The present study firstly aimed to assess whether seven strength exercise sessions promote sWAT browning. If so, secondly, to observe if this thermogenic adaptation can change lipid profile, increase lipolysis and reduce lipogenesis activity pathway in this tissue. At the end of this study, it was possible to observe that short-term strength training was able to change fat tissue profile and moderately decrease the lipogenesis pathway. These findings were associated with the slightly beginning of browning process in obese animals.

It was identified that fourteen weeks of obesity induction was able to increase fat mass, develop insulin resistance, and increase fasting glycemia and insulinemia. Corroborating our findings, Nakandakari and colleagues showed that four weeks of HFD in mice induces insulin resistance, body weight gain and increased fasting glucose²⁴. Moreover, it was possible to observe that obese exercised animals reduced fasting glycemia, blood glucose, the area under the glycemic curve, total cholesterol, and LDL parameters. In a study conducted by Pereira et al. (2019), they showed that

fifteen sessions of strength exercise were able to reduce fasting glucose, hepatic triglyceride, and lipogenesis pathway in obese mice²⁵. In parallel to our findings, Clark and et al. observed that sixteen weeks of aerobic exercise were able to reduce LDL levels of women in the gestational period during and after the exercise period when compared to the control²⁶. For a chronic period, Marson and colleagues (2016) demonstrated that chronic aerobic, resistance or combined training is associated with reduced fasting insulin in overweight or obese children²⁷.

Subsequently, it was analyzed the effects of the high-fat diet on altering the lipid profile of fatty acids of subcutaneous adipose tissue. It sought to understand the composition of fatty acids in sWAT and the potential effect of strength training on altering this lipid profile.

The increment in the total saturated and monounsaturated fatty acid was expected in the sWAT of the groups treated with high-fat diet, once the main source of lipids in the diet was provenient from lard. We followed the American Institute of Nutrition²⁸, to planning the modified high-fat diet, in accordance to Cintra et al., (2012)²⁹. This diet contains ~21% of palmitic fatty acid and ~40% of oleic fatty acid in its composition. However, when compared to the content of these fatty acids in the commercial food for rodents, palmitic fatty acid reaches only 13%, and ~27% of oleic fatty acid²⁹. Then, these fatty acids are incorporated to adipose tissue depots, proportionally to founded in the diet. Interestingly, the group treated with the physical exercise protocol, the saturated fatty acids profile was changed in the subcutaneous adipose tissue, but not monounsaturated fat profile, including its representants, palmitoleic and oleic fatty acids. We strongly believed that palmitic fatty acid was driven to β -oxidation process. This affirmative is corroborated by the partially reduction in the FAS and pACC protein contents, but strongly correlated to reduction in the SCD1 protein. With the absence in the SCD1 protein, the desaturation and elongation process are compromised. It is certified once more due to the non changes in the palmitoleic content (the first product after SCD1 action in palmitic fatty acid) nor oleic fatty acid content. On the other hand, the increased AMPK activity represent the main nutritional intracellular sensor, which indicates the catabolism signaling. Also, Choi and colleagues, described that the reduction of the saturated fatty acid profile, the greater reduction of the inflammatory process, and consequently greater sensitivity to insulin³⁰. Besides, Rodrigues et al. evaluated the effects of voluntary physical exercise and aerobic training for eight weeks in lean rats. They demonstrated that both the voluntary exercise protocol and aerobic training were not effective in reducing the levels of saturated fatty acids (C16:0 and C18:0). However, both protocols were able to decrease the amount of unsaturated fatty acid (C16:1) in the epididymal adipose tissue³¹. In parallel to our findings, Sutherland and colleagues, analyzing trained men to four months of high volume aerobic training (marathon),

observed that the training load was able to reduce the levels of fatty acids palmitic (C16:0) and oleic (C18:1) in the subcutaneous adipose tissue when compared to sedentary individuals³².

The lipolysis of sWAT can be controlled by AMPK. When phosphorylated, AMPK activates two lipases proteins, the hormone-sensitive lipase (HSL) and adipose triglyceride lipase (ATGL)³³. Thirupathi et al. compared the effects of strength and aerobic training on the pAMPK in white adipose tissue. They showed that both exercise protocols were successful in increasing the activity of AMPK in trained animals when compared to the sedentary group¹⁹. Corroborating these findings, Higa and colleagues evaluated the effects of chronic aerobic exercise on the pAMPK levels in the visceral adipose tissue of obese mice. They showed that the exercise protocol was efficient in increasing the phosphorylation of AMPK³⁴. On the other hand, Kurauti et al. observed that acute aerobic exercise was not effective in increasing the AMPK phosphorylation in the subcutaneous white adipose tissue of obese animals³⁵. In the present study, obese animals increased pAMPK levels in the subcutaneous adipose tissue and the short-term exercise protocol was not sufficient to change this parameter. In our study, such changes may be observed if the training period was longer as shown by the literature. Another limiting factor for not observing changes in pAMPK after exercise, it was the time of tissue collection after the exercise session. As demonstrated by Halling, immediately after the exercise session, the pAMPK is elevated in adipose tissue. However, two hours after, its phosphorylation already reaches baseline values³⁶.

Wohlers and colleagues evaluated the effects of acute aerobic exercise on the PLIN1 phosphorylation in the visceral adipose tissue of obese mice. It was observed that the exercised animals did not increase the phosphorylation of PLIN1³⁷. On the other hand, Ko et al. (2018) showed that after chronic aerobic exercise the activation of PLIN1, HSL, and ATGL was increased. Corroborating the findings of Ko et al., Americo and colleagues observed that eight weeks of aerobic exercise was able to significantly reduce the diameter of adipocytes through the modulation of proteins pPLIN1 and pHSL in obese animals³⁸. In this sense, these findings suggest that the PLIN1 phosphorylation in the subcutaneous adipose tissue seems to be exercise time-dependent³⁹. Thus, in the present study, it was observed that obese animals decreased the phosphorylation of PLIN1. Moreover, the short-time exercise protocol was not able to revert this condition in sWAT. In this sense, it seems that the short-term strength exercise may not be enough to increase the PLIN phosphorylation in subcutaneous adipose tissue.

Studies have demonstrated the influence of exercise on ABHD5 protein in subcutaneous adipose tissue. The ABHD5, when associated with ATGL, results in greater fatty acid degradation in adipose tissue^{40,41}. Stephenson et al. showed that six-week of strength exercise was not enough to

change the ABHD5 levels in visceral adipose tissue of obese animals. Moreover, Yao and colleagues showed that twelve weeks of aerobic training was not sufficient to alter the *Cgi-58* gene transcription (ABHD5) in the subcutaneous adipose tissue of overweight humans⁴². Corroborating these results, it was not possible to observe changes in ABHD5 levels in response to obesity and after a short-term strength exercise protocol.

Regarding the lipogenesis pathway, Pereira and colleagues evaluated the effects of short-term strength exercise (15 days of exercise) on ACC in the liver tissue of obese mice. They demonstrated that exercised obese animals were able to reduce the levels of fat accumulation and inflammation in the liver, due to the reduction of ACC activity when compared with the sedentary obese group²⁵. Moreover, Chen et al. evaluated the effect of chronic moderate aerobic training on pACC levels in the subcutaneous adipose tissue of obese mice and they observed that the exercise protocol was not effective in increasing the levels of pACC⁴³. On the other hand, Arnt et al. evaluated patients with metabolic syndrome and submitted them to sixteen weeks of exercise (high-intensity training "HIIT" vs moderate exercise). In the present study, seven sessions of strength exercise were not enough to observe a difference for the pACC protein. Based on other studies, it is believed that the time of intervention was not enough to activate these enzymes in the sWAT of obese trained animals^{45,46}.

Lee and colleagues demonstrated that the high activity of the SCD1 enzyme in 3T3-L1 cells (adipose cells) is responsible for increasing the fatty acid synthesis process⁴⁷. Pereira et al. showed that 15 days of strength exercise decreased the SCD1 levels in the liver of obese mice²⁵. In parallel, Stotzer et al. evaluated the effects of chronic aerobic exercise on subcutaneous and mesenteric adipose tissue of obese mice. They observed that exercised animals decrease SCD1 gene levels in mesenteric adipose tissue, but with no difference in the subcutaneous adipose tissue⁴⁸. In the present study, it was demonstrated that obese animals increased SCD1 levels in sWAT and that only seven session of strength exercise were sufficient to reverse this parameter.

The browning process of white adipose occurs through the modulation of the PPAR γ /PGC-1 α /PRDM16 pathway that stimulates the synthesis of UCP1⁴⁹. Castellani et al. (2014) and Reynolds et al. (2015) evaluated the effects of chronic aerobic exercise on the expression of *Ppar γ* mRNA in epididymal adipose tissue of obese animals. They demonstrate that the exercise protocol was not efficient in increasing the transcription of the *Ppar γ* gene when compared with sedentary obese animals^{50,51}. On the other hand, Petridou and colleagues showed that eight weeks of voluntary running increased the expression of PPAR γ in the subcutaneous adipose tissue of lean rats⁵². In the present study, it was possible to observe that the sedentary obese group increased the levels of the

Pparγ gene compared to the control group and that the exercise protocol decreases its levels. However, when the total protein content of PPAR γ was evaluated, both obese groups increased its levels and no effects of the exercise were found. Possibly, the relationship between gene level and protein expression for the trained group has not occurred. This phenomenon may be occurred due to the beneficial effects of exercise in minimizing the stimuli of differentiating pre-adipocyte cells into mature adipocytes since obesity is responsible for the increase of PPAR γ expression inducing adipocyte hyperplasia and collaborate in the white adipose browning process⁵³.

Stephenson and collaborators demonstrated that six weeks of aerobic exercise was not efficient in increasing the protein content of PGC-1 α in sWAT of ovariectomized rats when compared to sedentary⁵⁴. Norheim et al. (2014), analyzing healthy and overweight men submitted to 12 weeks of combined training (strength + endurance training), found no difference in the expression of the *Pgc-1 α* gene in the subcutaneous adipose tissue¹¹. Corroborating these findings, the present study did not observe changes in the gene levels and protein expression for PGC-1 α in mice.

The PRDM16 is the protein responsible for regulating the transcription of UCP1⁵⁵. Lee et al. demonstrated that the PRDM16 collaborates with the browning of WAT in adipocyte cell culture (3T3-L1)⁵⁶. Stanford and colleagues (2015), demonstrated that eleven days of aerobic running was able to increase the gene levels of *Prdm16* in the white adipose tissue of obese mice¹⁸. Still, Khalafi et al. evaluated the effects of twelve weeks of high-intensity interval training (HIIT) in obese male rats on PRDM16 expression, they demonstrated that the HIIT exercise was efficient in increasing the protein content of PRDM16, in subcutaneous adipose tissue⁵⁷. In the present study, it was demonstrated that short-term strength training was able to increase gene levels as well as the protein content of *Prdm16*, when compared to control mice. Probably, the time of intervention with training was not enough to find a difference in the protein content of PRM16 between the obese groups.

Finally, UCP1 is transcribed by the PPAR γ /PGC-1 α /PRMD16 complex⁴⁹. It is a transmembrane protein located between the inner membrane and the mitochondrial matrix, responsible for modulating the proton gradient by removing H⁺ ions from the intramembranous space to the matrix and generating energy in the form of heat⁵⁸. Schaalan and colleagues (2017) showed that six weeks of combined training increased the expression of *Ucp1* gene in the inguinal adipose tissue of obese rats⁵⁹. On the other hand, after submitted obese mice to high-intensity interval training (HIIT), Davis et al. did not observe any UCP1 modulation in the epididymal and retroperitoneal adipose tissue⁶⁰. However, in the sWAT, Diaz and colleagues showed that twelve weeks of aerobic training increased *Ucp1* gene expression in the subcutaneous adipose tissue of overweight and obese humans (women and men)⁶¹. In the present study, it was demonstrated that strength exercise was

able to increase the *Ucp1* gene levels. Interestingly, analyzing the UCP1 total protein content in sWAT, it was not observed any difference between the groups. Our findings do not present a relationship between gene transcription and its protein expression. Thus, it is believed that the time of the strength training was not effective in promoting the necessary gene mRNA translation. Furthermore, the effects of strength training are still not well described in the literature as influencing changes in the sWAT genotype.

Therefore, we can conclude that short-term of strength session was able to collaborate with the glucose and serum LDL homeostasis in obese mice. Decreased the levels of saturated, polyunsaturated, palmitic fatty acids and α -Linolenic fatty acids in sWAT. It did not change the lipolysis and slightly decrease the lipogenic pathway and increased the browning process. Thus, it is concluded that 7 days of strength exercise can be an effective strategy to initiate morphological changes and the browning process in sWAT.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the research support agency National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ), Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and São Paulo State Research Support Foundation (FAPESP) (2015/07199-2). The authors would like to thank Fernando Moreira Simabuco for all the assistance during the experiments.

CONFLICT OF INTEREST

The authors of this study have no competing interests to declare.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

L.P.M designed the manuscript. D.G.M. physiological tests, animal training, data analysis, physiological, protein and gene results, writing and written work development and had the overall responsibilities of the experiments in this study; C.P.A physiological results, physiological tests and animal training; K.C.C.R. project organization, physiological tests and animal training; R.M.P. project organization, physiological tests and animal training; T.D.P.C. physiological tests and animal training; R.S.C. physiological tests and animal training; C.O.R. contributed by performing the analysis and statistical treatment of chromatography data. A.S.R.S, D.E.C, E.R.R., J.R.P, and L.P.M contributed to the discussion, review and supported the financial costs. All the authors have read and approved this manuscript.

METHODS

Experimental Animals

In the present study, it was used eight-week-old swiss mice from the UNICAMP Central Animals Facility (CEMIB). Animal experiments were carried out under Brazilian legislation on the scientific use of animals (Law No. 11,794, October 8, 2008) and were accepted by the Animal Ethics Committee (CEUA) of Biological Sciences, UNICAMP-Campinas-SP, No. 4773-1. The number of animals used in the present experiment is found in the description of each figure. The animals were individually maintained in polyethylene cages in an enriched environment (PVC tubes were sawed into the medium yielding a 10 x 10 cm base and 5 cm high shelter) under controlled cycle conditions (12/12h) with free access to water and conventional food, the light was switched on from 06:00 am to 06:00 pm, the temperature was controlled at 22 ± 2 °C, the relative humidity was 45-55%, and the noises were below of 85 decibels. Initially, the animals were divided into two groups, the chow diet (CT) and the high-fat diet (HFD). The animals from HFD were fed a high-fat diet (HFD, 60% of the calorie derived from lipids) for fourteen weeks, that were subdivided into two groups: obese sedentary (OBS) and obese strength exercise (OBexT).

Short-term training adaptation

Before starting the training protocol, the animals were adapted to exercise and its apparatus. The procedures were performed for 5 consecutive days. Before the first attempt to climb with the empty conic tube used to carry the load, the animal was kept inside the chamber at the top of the ladder for 60 seconds. In the first attempt of climbing, the animal was positioned on the stairs 15 cm away from the entrance of the chamber. For the second attempt, the animal was positioned 25 cm away from the chamber. By the third attempt, the animal was positioned at the base of the ladder, 70 cm away from the chamber. When the animal reached the chamber, an 60 seconds resting period was given. Attempts from the bottom of the ladder continued until the animal successfully completed three attempts without any stimulus.

Maximal Voluntary Carrying Capacity determination – MVCC

To control exercise intensity the animals performed the test to determine the maximum voluntary carrying capacity (MVCC), proposed for rats^{20,62}, and was standardized for mice²⁵. It consist in an incremental test aiming to identify the maximum individual load with which the animal can perform a series of climbs of 70 cm. After the adaptation protocol, the animals rested for one day before starting the test. During the test, the animals left the base of the ladder, and the attempt was considered successful when they reached the minimum distance proposed of 70 cm.

The initial series was performed with 75% of animal's body weight overload, if the animal reached the desired height, increments of 5 grams were added to the tube within each new attempt to climb until the animal could not complete the entire course, being considered exhaustion. In each successful attempt, the animal was removed from the ladder and placed in an individual cage resting for 5 minutes until the next attempt. The maximum load of the last successful attempt was considered the MVCC and was used to prescribe the individual loads during the experiment.

Exercise Protocol

Forty-eight hours after the MVCC determination, the strength training protocol was initiated. The exercise sessions consisted of 20 climbing series, with an overload of 70% of the MVCC and with a rest interval of 60-90 seconds between sets. After completing a series, the animal was removed from the ladder and placed in an individual cage during rest time. The animals were exercised for 5 consecutive days. Then, 8 h after their last exercise session they performed the insulin tolerance test. After that, they performed more 2 days of exercise. Lastly, 8 h after their last exercise session they were euthanized for tissue samples harvest and biomolecular analyses (Figure 7).

***INSERT FIGURE 7**

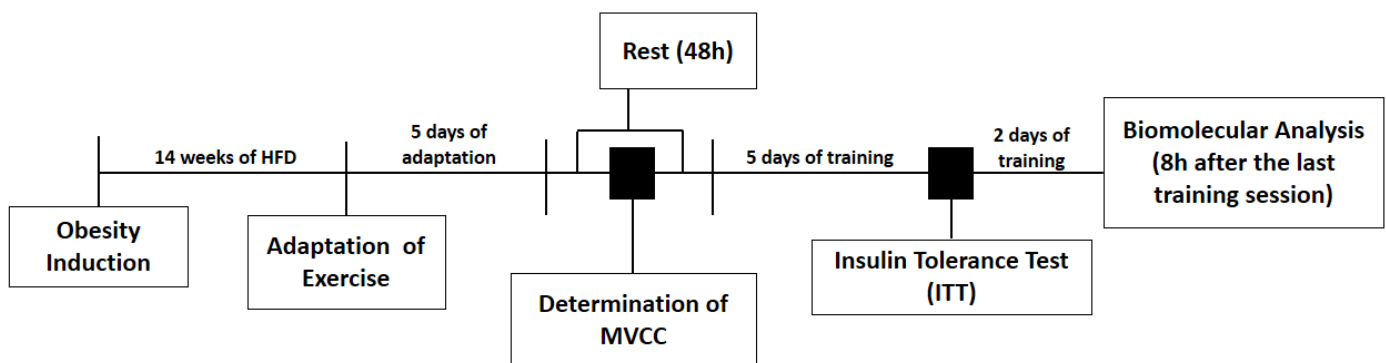


Figure 7: Experimental Design. Schematic representation of the duration of the experiment.

Intraperitoneal Insulin Tolerance Test (ITT)

After a fasting period of 8 hours and after the 5th physical exercise session, the animals were submitted to ITT to estimate glucose uptake capacity. Before starting the test, baseline blood glucose was assessed. Then the insulin (1U/kg body weight) was injected intraperitoneally (i.p.) and blood samples were collected at 5, 10, 15, 20, 25 and 30 minutes from the tail to determine blood glucose. Glucose levels were determined using a glucometer (Accu-Chek®; Roche Diagnostics). Results were evaluated by determining areas under serum glucose curves (AUC) by the trapezoidal method⁶³ using Microsoft Excel®.

Adipose Tissue extraction

After the ITT all animals were submitted to two additional strength exercise session and 8 h after the 7th exercise session they were anesthetized via ip injection of *chloral hydrate* (300 mg/kg, ketamine, Parke-Davis, Ann Arbor, MI) and xylazine (30 mg/kg, Rompun, Bayer, Leverkusen). After this, the corneal reflexes were verified and assured. Thereafter, the blood was collected and the subcutaneous adipose tissue was rapidly removed and snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C until analysis. The tissue was homogenized in extraction buffer (1% Triton-X 100, 100 mM Tris (pH 7.4), 100 mM sodium pyrophosphate, 100 mM sodium fluoride, 10 mM EDTA, 10 mM sodium vanadate, 2 mM PMSF and 0.1 mg of aprotinin/mL) at 4 °C with a TissueLyser II (QUIAGEN®) operated at maximum speed for 240 seconds.

Western Blotting

The lysates were centrifuged (Eppendorf 5804R) at 12.851 g at 4 °C for 45 min to remove insoluble material, and the supernatant was used for the assay. The protein content was determined according to the bicinchoninic acid method⁶⁴. The samples were applied to a polyacrylamide gel for separation by SDS-PAGE and transferred to nitrocellulose membranes. The membranes were blocked with 5% dry milk at room temperature for 1 h and then incubated with primary antibodies against the protein of interest ([Cell® UCP1#14670, PPARγ#2435, SCD1#2794s, β-actin#3700, pACC #3661], [Vala Sciences® pPLIN1#4855], [Abcam® PRDM16#ab106410], [Santa Cruz® PGC-1α#sc13067, pAMPK#sc33524, AMPK#sc25792], [Proteintech® ABHD5#12201-1-ap]). Thereafter, a specific secondary antibody was used, according to the primary antibody. The specific bands were labeled by chemiluminescence and visualization was performed by photo documentation system in G:box (Syngene). The bands were quantified using the software UN-SCAN-IT gel 6.1.

Spectrophotometry

Blood serum levels of triglycerides, cholesterol, glucose, and HDL were determined according to the manufacturer's instructions using a commercial kit (Laborlab, Guarulhos-SP, Brasil) and using Biotek Gen5™. LDL determination by manufacturer's instructions method and Friedewald formula⁶⁵.

Quantitative Real-Time PCR

Total RNA was isolated using TRIzol reagent (Invitrogen, Grand Island, NY, USA). An amount of 2 µg total RNA was used as a template for cDNA synthesis using the SuperScript® III First

Chain Synthesis System (Invitrogen). Real-time PCR reactions were performed using 150 ng cDNA, 300 nM primers (Exxtend®) and SYBR® Select Master Mix (Applied Biosystem, Warrington, UK). Thermocycling parameters were: 10 minutes at 95 °C, followed by 40 cycles of 15 seconds at 95 °C, 30 seconds at 60 °C and 30 seconds at 72 °C. Relative expression of mRNAs was determined after normalization with *Ywhaz* using the $\Delta\Delta C_t$ method. Each primer set were designed to recognize unique regions of gene sequences, according to Table 1.

Table1. This table represents the browning pathway gene sequence used for qPCR analysis.

	FORWARD	REVERSE
<i>Pparg</i>	5'GTACTGTCGGTTTCAGAAAGTGCC3'	5'ATCTCCGCCAACAGCTTCTCCT3'
<i>Pgc-1(alpha)</i>	5'GAATCAAGCCACTACAGACACCG3'	5'CATCCCTCTTGAGCCTTTCGTG3'
<i>Prdm16</i>	5'ATCCACAGCACGGTGAAGCCAT3'	5'ACATCTGCCCACAGTCCTTGCA3'
<i>Ucp1</i>	5'GCTTTGCCTCACTCAGGATTGG3'	5'CCAATGAACACTGCCACACCTC3'
<i>Ywhaz</i>	5'GAACTCCCCAGAGAAAGCCT3'	5'CCGATGTCCACAATGTCAAGT3'

Adipose tissue lipid profile analyses

Lipids from subcutaneous adipose tissue were extracted following the proposed by Folch et al.⁶⁶. About 50 mg of tissue was added to 1 mL of chloroform: methanol (2:1 v/v). The samples were homogenized in the TissueLyser (QIAGEN®), centrifuged at 13.000 x g for 2 minutes, and then the supernatant was collected. The esterification of the lipid fraction was performed according to the method adopted by Shirai et al. (2005)⁶⁷. The fatty acids methyl esters were analyzed with a gas chromatograph-mass spectrometer (Shimadzu® GCMS-QP2010 Ultra), and a fused-silica capillary Stabilwax column (Restek Corporation, U.S.) with dimensions of 30 m × 0.25 mm internal diameter coated with a 0.25-μm thick layer of polyethylene glycol. High-grade pure helium (He) was used as the carrier gas with a constant flow rate of 1.0 mL/min. Using an automatic injector (AOC-20i), sample volumes of 1 μL were injected at 250 °C using a 20: 1 split ratio. The injector temperature was maintained at 250 °C, while the oven heating schedule started at 80 °C, with heating speed programmed in a ramp from 5 °C/min to 175 °C, followed by a heating rate of 3 °C/min until 230 °C, where the temperature was maintained for 20 minutes⁶⁸. Mass conditions were as follows:

ionization voltage, 70 eV; ion source temperature, 200 °C; full scan mode in the 35–500 mass range with 0.2 s/scan velocity.

Statistical analysis

All results were expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). The data were analyzed by the ANOVA test compared and the analysis of variance, followed by the multiple mean Bonferroni or Tukey test, when appropriate. The statistical significance was set at $p < 0.05$.

REFERENCES

1. Chooi, Y. C., Ding, C. & Magkos, F. The epidemiology of obesity. *Metabolism*. (2019) doi:10.1016/j.metabol.2018.09.005.
2. Smith, K. B. & Smith, M. S. Obesity Statistics. *Primary Care - Clinics in Office Practice* (2016) doi:10.1016/j.pop.2015.10.001.
3. Geserick, M. *et al.* Acceleration of BMI in early childhood and risk of sustained obesity. *N. Engl. J. Med.* (2018) doi:10.1056/NEJMoa1803527.
4. Banerji, M. A. & Chaiken, R. L. Insulin resistance and the metabolic syndrome. in *Principles of Diabetes Mellitus* (2010). doi:10.1007/978-0-387-09841-8-34.
5. Montonen, J. *et al.* Food consumption and the incidence of type II diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Nutr.* (2005) doi:10.1038/sj.ejcn.1602094.
6. Baskin, A. S. *et al.* Regulation of human adipose tissue activation, gallbladder size, and bile acid metabolism by A b3-adrenergic receptor agonist. *Diabetes* (2018) doi:10.2337/db18-0462.
7. Fedorenko, A., Lishko, P. V. & Kirichok, Y. Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell* (2012) doi:10.1016/j.cell.2012.09.010.
8. Fromme, T. & Klingenspor, M. Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* (2011) doi:10.1152/ajpregu.00411.2010.
9. Li, S. *et al.* Sildenafil induces browning of subcutaneous white adipose tissue in overweight adults. *Metabolism*. (2018) doi:10.1016/j.metabol.2017.09.008.
10. Pérez-Martí, A. *et al.* A low-protein diet induces body weight loss and browning of subcutaneous white adipose tissue through enhanced expression of hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21). *Mol. Nutr. Food Res.* (2017) doi:10.1002/mnfr.201600725.
11. Norheim, F. *et al.* The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* **281**, 739–749 (2014).
12. Nedergaard, J. & Cannon, B. The browning of white adipose tissue: Some burning issues. *Cell Metabolism* (2014) doi:10.1016/j.cmet.2014.07.005.
13. Bartelt, A. & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. (2013) doi:10.1038/nrendo.2013.204.
14. SYROVÝ, I. *et al.* Decreased fatty acid synthesis due to mitochondrial uncoupling in adipose tissue. *FASEB J.* **14**, 1793–1800 (2002).
15. Thyagarajan, B. & Foster, M. T. Beiging of white adipose tissue as a therapeutic strategy for weight loss in humans. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* (2017) doi:10.1515/hmbci-2017-0016.
16. Mottillo, E. P. *et al.* FGF21 does not require adipocyte AMP-activated protein kinase (AMPK) or the phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase (ACC) to mediate improvements in whole-body glucose

homeostasis. *Mol. Metab.* (2017) doi:10.1016/j.molmet.2017.04.001.

17. Mi, Y. *et al.* EGCG stimulates the recruitment of brite adipocytes, suppresses adipogenesis and counteracts TNF- α -triggered insulin resistance in adipocytes. *Food Funct.* (2018) doi:10.1039/c8fo00167g.
18. Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W. & Goodyear, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: Beiging and metabolic adaptations. *Diabetes* (2015) doi:10.2337/db15-0227.
19. Thirupathi, A. *et al.* Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *J. Physiol. Biochem.* (2019) doi:10.1007/s13105-019-00663-x.
20. Hornberger, T. A. & Farrar, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can. J. Appl. Physiol.* (2004) doi:10.1139/h04-002.
21. Boström, P. *et al.* A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* (2012) doi:10.1038/nature10777.
22. Zhang, Y. *et al.* Irisin exerts dual effects on browning and adipogenesis of human white adipocytes. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2016) doi:10.1152/ajpendo.00094.2016.
23. Zhang, J. *et al.* Exercise-induced irisin in bone and systemic irisin administration reveal new regulatory mechanisms of bone metabolism. *Bone Res.* (2017) doi:10.1038/boneres.2016.56.
24. Nakandakari, S. C. B. R. *et al.* Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain. Behav. Immun.* (2019) doi:10.1016/j.bbi.2019.02.016.
25. Pereira, R. M. *et al.* Short-term strength training reduces gluconeogenesis and NAFLD in obese mice. *J. Endocrinol.* (2019) doi:10.1530/JOE-18-0567.
26. Clark, E. *et al.* Influence of aerobic exercise on maternal lipid levels and offspring morphometrics. *Int. J. Obes.* (2019) doi:10.1038/s41366-018-0258-z.
27. Marson, E. C., Delevatti, R. S., Prado, A. K. G., Netto, N. & Kruehl, L. F. M. Effects of aerobic, resistance, and combined exercise training on insulin resistance markers in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Preventive Medicine* (2016) doi:10.1016/j.ypmed.2016.10.020.
28. Reeves, P. G., Nielsen, F. H. & Fahey, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* (1993) doi:10.1093/jn/123.11.1939.
29. Cintra, D. E. *et al.* Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One* (2012) doi:10.1371/journal.pone.0030571.
30. Choi, E. Y., Jin, J. Y., Choi, J. Il, Choi, I. S. & Kim, S. J. DHA suppresses Prevotella intermedia lipopolysaccharide-induced production of proinflammatory mediators in murine macrophages. *Br. J. Nutr.* (2014) doi:10.1017/S0007114513003681.
31. Rocha-Rodrigues, S. *et al.* Impact of physical exercise on visceral adipose tissue fatty acid profile and inflammation in response to a high-fat diet regimen. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2017) doi:10.1016/j.biocel.2017.04.008.
32. Sutherland, W. H. F., Woodhouse, S. P. & Heyworth, M. R. Physical training and adipose tissue fatty acid composition in men. *Metabolism* (1981) doi:10.1016/0026-0495(81)90061-5.
33. Jarc, E. & Petan, T. Lipid droplets and the management of cellular stress. *Yale Journal of Biology and Medicine* (2019).
34. Higa, T. S., Spinola, A. V., Fonseca-Alaniz, M. H. & Evangelista, F. S. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life Sci.* (2014) doi:10.1016/j.lfs.2014.02.039.

35. Kurauti, M. A. *et al.* Acute exercise restores insulin clearance in diet-induced obese mice. *J. Endocrinol.* (2016) doi:10.1530/JOE-15-0483.
36. Halling, J. F., Ringholm, S., Nielsen, M. M., Overby, P. & Pilegaard, H. PGC-1 α promotes exercise-induced autophagy in mouse skeletal muscle. *Physiol. Rep.* (2016) doi:10.14814/phy2.12698.
37. Wohlers, L. M., Jackson, K. C. & Spangenburg, E. E. Lipolytic signaling in response to acute exercise is altered in female mice following ovariectomy. *J. Cell. Biochem.* (2011) doi:10.1002/jcb.23302.
38. Américo, A. L. V. *et al.* Aerobic exercise training prevents obesity and insulin resistance independent of the renin angiotensin system modulation in the subcutaneous white adipose tissue. *PLoS One* (2019) doi:10.1371/journal.pone.0215896.
39. Ko, K. *et al.* Exercise training improves intramuscular triglyceride lipolysis sensitivity in high-fat diet induced obese mice. *Lipids Health Dis.* (2018) doi:10.1186/s12944-018-0730-8.
40. Sanders, M. A. *et al.* Endogenous and Synthetic ABHD5 Ligands Regulate ABHD5-Perilipin Interactions and Lipolysis in Fat and Muscle. *Cell Metab.* (2015) doi:10.1016/j.cmet.2015.08.023.
41. Patel, S., Yang, W., Kozusko, K., Saudek, V. & Savage, D. B. Perilipins 2 and 3 lack a carboxy-terminal domain present in perilipin 1 involved in sequestering ABHD5 and suppressing basal lipolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2014) doi:10.1073/pnas.1318791111.
42. Yao-Borengasser, A. *et al.* Adipose triglyceride lipase expression in human adipose tissue and muscle. Role in insulin resistance and response to training and pioglitazone. *Metabolism.* (2011) doi:10.1016/j.metabol.2010.10.005.
43. Chen, N. *et al.* Effects of treadmill running and rutin on lipolytic signaling pathways and TRPV4 protein expression in the adipose tissue of diet-induced obese mice. *J. Physiol. Biochem.* (2015) doi:10.1007/s13105-015-0437-5.
44. la Fuente, F. P. de *et al.* Exercise regulates lipid droplet dynamics in normal and fatty liver. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* (2019) doi:10.1016/j.bbalip.2019.158519.
45. Montenegro, M. L. *et al.* Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. *Reprod. Sci.* (2019) doi:10.1177/1933719118799205.
46. Lee, H. J., Le, B., Lee, D. R., Choi, B. K. & Yang, S. H. Cissus quadrangularis extract (CQR-300) inhibits lipid accumulation by downregulating adipogenesis and lipogenesis in 3T3-L1 cells. *Toxicol. Reports* (2018) doi:10.1016/j.toxrep.2018.02.008.
47. Stotzer, U. S. *et al.* Resistance training suppresses intra-abdominal fatty acid synthesis in ovariectomized rats. *Int. J. Sports Med.* (2015) doi:10.1055/s-0034-1390494.
48. Song, N. J., Chang, S. H., Li, D. Y., Villanueva, C. J. & Park, K. W. Induction of thermogenic adipocytes: Molecular targets and thermogenic small molecules. *Experimental and Molecular Medicine* (2017) doi:10.1038/emm.2017.70.
49. Castellani, L., Root-McCaig, J., Frendo-Cumbo, S., Beaudoin, M. S. & Wright, D. C. Exercise training protects against an acute inflammatory insult in mouse epididymal adipose tissue. *J. Appl. Physiol.* (2014) doi:10.1152/japplphysiol.00074.2014.
50. Reynolds, T. H. *et al.* Effects of a high fat diet and voluntary wheel running exercise on cidea and cidec expression in liver and adipose tissue of mice. *PLoS One* (2015) doi:10.1371/journal.pone.0130259.
51. Petridou, A. *et al.* Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ in rat adipose tissue. *Metabolism.* (2007) doi:10.1016/j.metabol.2007.03.011.
52. de sá, P. M., Richard, A. J., Hang, H. & Stephens, J. M. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Compr. Physiol.* (2017) doi:10.1002/cphy.c160022.
53. Stephenson, E. J. *et al.* Exercise training enhances white adipose tissue metabolism in rats selectively bred for

- low- or high-endurance running capacity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2013) doi:10.1152/ajpendo.00544.2012.
54. Wang, S., Pan, M. H., Hung, W. L., Tung, Y. C. & Ho, C. T. From white to beige adipocytes: Therapeutic potential of dietary molecules against obesity and their molecular mechanisms. *Food and Function* (2019) doi:10.1039/c8fo02154f.
 55. Lee, H. E. *et al.* Anti-obesity potential of Glycyrrhiza uralensis and licochalcone A through induction of adipocyte browning. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2018) doi:10.1016/j.bbrc.2018.07.168.
 56. Khalafi, M. *et al.* The Impact of Moderate-Intensity Continuous or High-Intensity Interval Training on Adipogenesis and Browning of Subcutaneous Adipose Tissue in Obese Male Rats. *Nutrients* (2020) doi:10.3390/nu12040925.
 57. Chi, J. *et al.* Three-Dimensional Adipose Tissue Imaging Reveals Regional Variation in Beige Fat Biogenesis and PRDM16-Dependent Sympathetic Neurite Density. *Cell Metab.* (2018) doi:10.1016/j.cmet.2017.12.011.
 58. Schaalán, M. F., Ramadan, B. K. & Abd Elwahab, A. H. Synergistic effect of carnosine on browning of adipose tissue in exercised obese rats; a focus on circulating irisin levels. *J. Cell. Physiol.* (2018) doi:10.1002/jcp.26370.
 59. Davis, R. A. H. *et al.* High-intensity interval training and calorie restriction promote remodeling of glucose and lipid metabolism in diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2017) doi:10.1152/ajpendo.00445.2016.
 60. Otero-Díaz, B. *et al.* Exercise Induces White Adipose Tissue Browning Across the Weight Spectrum in Humans. *Front. Physiol.* (2018) doi:10.3389/fphys.2018.01781.
 61. Speretta, G. F. *et al.* Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. *Life Sci.* (2016) doi:10.1016/j.lfs.2016.01.011.
 62. Matthews, J. N. S., Altman, D. G., Campbell, M. J. & Royston, P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br. Med. J.* (1990) doi:10.1136/bmj.300.6725.680-a.
 63. Walker, J. M. The bicinchoninic acid (BCA) assay for protein quantitation. *Methods Mol. Biol.* **32**, 5–8 (1994).
 64. Friedewald, W. T., Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* (1972) doi:10.1093/clinchem/18.6.499.
 65. FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* (1957) doi:10.3989/scimar.2005.69n187.
 66. Shirai, N., Suzuki, H. & Wada, S. Direct methylation from mouse plasma and from liver and brain homogenates. *Anal. Biochem.* (2005) doi:10.1016/j.ab.2005.04.037.
 67. Cintra, D. E. C. *et al.* Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. *Nutrition* (2006) doi:10.1016/j.nut.2005.09.003.

6. DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença multifatorial e responsável pelo desenvolvimento de diversas doenças em decorrência do aumento do peso corporal⁹⁹. Até o momento, diferentes estratégias foram desenvolvidas para combater os efeitos adversos causado pelo excesso de tecido adiposo^{149,150}. Assim, encontrar maneiras de aumentar o gasto energético basal pode ser um interessante método para auxiliar no gasto calórico e na redução do tamanho do tecido adiposo. Nesse sentido, o gasto de energia que ocorre no tecido adiposo marrom (TAM) é uma possível estratégia para aumentar o

consumo calórico¹⁵¹. No intuito de compreender possíveis alterações no TAB, estudos mostram que o tecido adiposo branco pode sofrer modificações moleculares tornando-se altamente semelhante ao TAM^{31,78}. Entre as principais mudanças está o aumento da expressão de PRDM16 e UCP1, processo que é conhecido como bequeamento do tecido adiposo branco¹⁵². Sabendo disso, torna-se necessário conhecer os mecanismos que possam induzir o TAB as alterações moleculares que o leva a aumentar o gasto energético consumindo o excesso de energia de forma semelhante ao TAM. Nesse contexto, é sabido que o exercício físico aeróbio é um fator importante capaz de proporcionar o bequeamento do TAB¹⁵³. No entanto, os efeitos do exercício de força de curta duração no bequeamento do TAs ainda não estão esclarecidos. Assim, primeiramente, o presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade do treinamento de força de curta duração em promover o bequeamento do TAs. Ademais, buscamos observar se essa adaptação termogênica poderia alterar o perfil lipídico, aumentar a lipólise e reduzir a atividade lipogênica no tecido adiposo subcutâneo. No final do estudo, foi possível observar que o treinamento de força de curta duração foi capaz de iniciar parcialmente o processo de bequeamento em animais obesos e que essa ligeira alteração na composição do TAs foi suficiente para alterar o perfil de ácidos graxos do tecido adiposo subcutâneo e diminuir moderadamente a resposta da via da lipogênese.

No presente estudo, identificamos que 14 semanas de indução a obesidade foram capazes de aumentar a gordura corporal, desenvolver resistência à insulina e aumentar a glicemia e a insulinemia de jejum. Corroborando os achados, Nakandakari e colaboradores (2019), mostraram que 4 semanas de HFD em camundongos foi capaz de induzir a resistência à insulina, ganho de peso corporal e aumento da glicemia de jejum¹¹⁰. Em contrapartida, foi possível observar que os animais do grupo obeso exercitado reduziram a glicemia de jejum, a área sob a curva glicêmica, o colesterol total e os parâmetros de LDL. De encontro com os achados do presente estudo, Pereira et al. (2019), observaram que apenas 15 sessões de exercício de força foram capazes de reduzir a glicemia de jejum, triglicerídeo hepático e o processo de síntese de lipídeos no fígado de camundongos obesos⁷¹. Em paralelo aos nossos achados, Marson et al. (2016) demonstraram que o treinamento aeróbio, de resistência ou combinado executado de forma crônica está associado à redução da insulina de jejum em crianças com sobrepeso ou obesidade⁸⁸. Por um período crônico, Clark e colaboradores, induziram 14 mulheres, em período gestacional, à 16 semanas de exercício aeróbio e foi possível observar a redução dos níveis de LDL durante e após todo o período de exercício, quando comparadas com o grupo controle¹¹¹.

Posteriormente analisamos os efeitos da dieta hiperlipídica em alterar o perfil lipídico dos ácidos

graxos que compõem o tecido adiposo subcutâneo, buscamos compreender qual a composição dos ácidos graxos no TAs e o potencial efeito do exercício de força em alterar esse perfil lipídico. Verificou-se então, que o exercício de força de curta duração foi capaz de promover a redução da quantidade de ácidos graxos monoinsaturados, saturados e palmítico (C16:0) no tecido adiposo subcutâneo, os efeitos foram observados em comparação com o grupo obeso que não realizou as sessões de exercício. Com o intuito de demonstrar o efeito benéfico da redução de ácidos graxos saturados, Choi et al. descrevem que a diminuição do perfil de ácidos graxos proporciona uma maior redução do processo inflamatório no tecido adiposo e, conseqüentemente, um aumento da sensibilidade à insulina no tecido¹¹⁴. Assim, Rodrigues et al. (2017), avaliaram os efeitos do exercício físico voluntário e do treinamento aeróbio durante 8 semanas em modelo experimental, após o período de intervenção, foi demonstrado que tanto o protocolo de exercício voluntário quanto o treinamento aeróbio não foram eficazes na redução dos níveis de ácidos graxos saturados (C16:0 e C18:0). No entanto, ambos os protocolos foram capazes de diminuir a quantidade de ácido graxo insaturado (C16:1) no tecido adiposo epididimal¹¹⁵. Paralelo aos nossos achados, Sutherland et al. ao submeterem 20 homens treinados à 4 meses de treinamento aeróbio de alto volume (maratona) e observou que a carga de treino foi capaz de reduzir os níveis de ácido graxo palmítico (C16:0) e oleico (C18:1) no tecido adiposo subcutâneo quando comparados com indivíduos sedentários¹¹⁶.

Após analisarmos o conteúdo lipídico de ácidos graxos que compõem o tecido adiposo subcutâneo, se torna necessário investigar as proteínas envolvidas no processo de degradação de lipídios. No entanto, poucos estudos demonstraram a influência do exercício sobre a proteína ABHD5 no tecido adiposo subcutâneo, proteína que ao se associar a ATGL resulta na maior degradação de ácidos graxos no TAs^{33,122}. Com o intuito de investigar os efeitos do exercício sobre a proteína ABHD5, Stephenson e colaboradores, realizaram o protocolo de seis semanas de treinamento de resistência em animais obesos buscando avaliar os efeitos do treino na modulação de ABHD5 no tecido adiposo visceral. Após o período de treinamento, não foi encontrado alteração no conteúdo proteico de ABHD5 em comparação ao grupo obeso sedentário¹³⁴. Concomitantemente, Yao (2011) analisou o efeito de doze semanas de treinamento aeróbio na transcrição gênica de *Cgi-58* (ABHD5) no tecido adiposo subcutâneo de humanos com sobrepeso. O autor não encontrou diferença entre o grupo sedentário e treinado nos níveis gênicos de *Cgi-58*¹²³. Corroborando os achados da literatura, no presente estudo não encontramos alterações nos níveis de ABHD5 no grupo obeso sedentário e no grupo obeso treinado após o treino de curta duração.

Em relação a proteína PLIN1, com o intuito de avaliar os efeitos do exercício na modulação da PLIN1 no tecido adiposo, Wohlers et al. avaliaram o potencial de uma sessão de exercício aeróbio na capacidade de fosforilação da proteína PLIN1 no tecido adiposo visceral de camundongos obesos, ao término do experimento observou-se que os animais que realizaram a sessão aguda de exercício não aumentaram a concentração de PLIN1 fosforilada no tecido adiposo quando comparado com os animais sedentários¹²⁰. Por outro lado, quando avaliado os efeitos do treinamento crônico, Ko et al. (2018), induziram camundongos obesos a oito semanas de treinamento de corrida em esteira, após análises moleculares foi possível observar o aumento na ativação de pPLIN1, pHSL e ATGL em comparação com o grupo obeso sedentário, demonstrando que o exercício aeróbio realizado por um longo prazo é um método eficiente para ativar proteínas responsáveis pela lipólise no tecido adiposo branco¹²¹. Corroborando os achados de Ko, Americo e colaboradores observaram que oito semanas de treinamento aeróbio foi capaz de reduzir significativamente o diâmetro de adipócitos em animais obesos através da modulação das proteínas pPLIN1 e pHSL, resultando, ainda, em maior sensibilidade dos receptores de insulina⁶¹. Com isso, no presente estudo é possível observar que após a ingestão de dieta hiperlipídica o grupo obeso diminuiu a capacidade de fosforilação de PLIN1, no entanto, quando comparamos com o grupo obeso treinado é possível observar que o treino de força de curta duração não foi capaz de aumentar os níveis de pPLIN1 no TAs.

Demonstrando os efeitos do exercício sobre a enzima AMPK, Thirupathi e colaboradores compararam a resposta da enzima frente a dois protocolos de treinamento, grupo treino de força e treino aeróbio, por um período de 8 semanas avaliando seu conteúdo no tecido adiposo branco. Após às análises moleculares, foi possível observar que ambos os protocolos de exercício tiveram êxito em aumentar a atividade da pAMPK em animais idosos treinados quando comparados ao grupo idoso sedentário⁹⁸. Corroborando os achados do estudo anterior, Higa et al. avaliaram os efeitos do exercício aeróbio, por 8 semanas, na capacidade de ativação da pAMPK no tecido adiposo visceral de camundongos obesos. De acordo com os resultados, foi possível observar que o treinamento aeróbio crônico aumentou a fosforilação de AMPK no grupo obeso treinado quando comparado ao grupo obeso sedentário⁵⁵. Em contrapartida, quando foi analisado o curto efeito do exercício sobre a enzima, o estudo realizado por Kurauti e colaboradores, avaliou o papel do exercício aeróbio agudo em resposta à ativação da pAMPK no tecido adiposo branco de animais obesos, o grupo demonstrou que o exercício agudo não foi eficaz em aumentar a capacidade de fosforilação da AMPK quando comparado com o grupo obeso sedentário¹¹⁸. No presente estudo, animais obesos aumentaram os níveis de pAMPK. No entanto, o protocolo de treinamento de força

de curta duração não foi eficaz no aumento da atividade da AMPK em comparação ao grupo obeso sedentário. Paralelamente aos nossos resultados, Kurauti demonstrou que o treinamento agudo pode não ser uma estratégia eficaz para aumentar a capacidade de fosforilação da AMPK em camundongos obesos¹¹⁸. Em nosso estudo, o período de curta duração também não demonstrou alterações na ativação da AMPK no grupo obeso treinado, essas alterações poderiam ter sido observadas caso o período de treinamento fosse mais longo, como demonstra a literatura, ou se o tempo de extração fosse 0h pós-exercício, já que a fosforilação da AMPK demonstra diminuir em relação ao tempo de extração pós-exercício¹¹⁹.

Partindo para às análises da síntese de ácidos graxos no tecido adiposo. Sabe-se que no TAB a enzima acetil-CoA carboxilase (ACC) é responsável pela síntese de ácidos graxos, seu papel é atuar na quebra da molécula acetil-CoA em malonil-CoA. Os altos níveis de concentração dessa proteína é capaz de auxiliar na inserção de novos carbonos, formando um ácido graxo de cadeia longa¹⁵⁴. Posteriormente, a enzima ácido graxo sintase (FAS) atua na conversão de malonil-CoA em acil-CoA¹⁵⁵. Nesse sentido, Blomquist et al. (2018) demonstrou o efeito da enzima FAS no processo de lipogênese *de novo* em células 3T3-L1 (adipócito), onde observaram a FAS como sendo um dos fatores responsáveis pelo aumento da obesidade¹⁵⁶. Ao analisar os efeitos do exercício frente a enzima ACC, Pereira e colaboradores (2019) demonstraram que animais obesos após realizarem 15 sessões de treinamento de força foram capazes de reduzir os níveis do acúmulo de gordura e inflamação no fígado, devido a redução da atividade da pACC quando comparados com o grupo obeso sedentário⁷¹. No presente estudo, não foi possível observar diferença para a proteína pACC entre os grupos obeso sedentário e obeso treinado. Com base em outros estudos, acreditamos que o tempo de intervenção proposto possa ter interferido na capacidade de ativação dessa enzima no TAB dos animais treinados. Conforme demonstrado por Pereira, quinze dias de treinamento de força já demonstra efeito positivo na diminuição de ACC.

No processo final de síntese de ácidos graxos, a enzima SCD1 é responsável pela conversão de ácidos graxos saturados em ácidos graxos insaturados, processo que ocorre no retículo endoplasmático, agregando uma dupla ligação ao ácido graxo formando os triacilgliceróis, facilitando seu processo de inserção junto a gota lipídica¹⁵⁵. Sabendo disso, Pereira et al., analisaram os efeitos da obesidade e de 15 dias de treinamento de força nos parâmetros fisiológicos e moleculares no tecido hepático, após o período de intervenção foi possível observar que com apenas quinze sessões de treinamento de força os animais do grupo obeso treinado apresentaram redução nos níveis de SCD1 quando comparado ao grupo obeso sedentário⁷¹. Paralelamente aos

achados de Pereira, Stotzer e colegas avaliaram os efeitos do treino aeróbio, por um período de dez semanas, no tecido adiposo subcutâneo e mesentérico. Os autores observaram que o treinamento aeróbio foi responsável pela redução dos níveis de SCD1 apenas no tecido adiposo mesentérico do grupo obeso treinado quando comparado com o grupo obeso sedentário¹²⁸. No presente estudo, demonstramos que os níveis de SCD1 estão aumentados no grupo OBS quando comparado ao grupo CT e ao analisar os animais obesos, podemos observar que o protocolo de treino de força de curta duração foi capaz de reduzir os níveis de SCD1 no TAs comparado com os animais sedentários. Com isso, pode-se sugerir que o atual protocolo de treinamento de força possa iniciar o processo de diminuição da síntese de lipídeos junto ao TAs.

Muitos estudos já elucidaram os efeitos de diferentes fármacos como método para inibição do processo de lipogênese, aumento da sensibilidade à insulina e estimulação do bequeamento no tecido adiposo subcutâneo com o intuito de reduzir os efeitos deletérios da obesidade¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. No entanto, ainda pouco se sabe sobre os efeitos do treinamento no estímulo do bequeamento no tecido adiposo branco. Buscando avaliar os efeitos do exercício, Reynolds et al. (2015), analisaram os efeitos do exercício crônico de baixa intensidade em animais obesos sobre a expressão de RNAm de *Pparγ* no tecido adiposo epididimal. O estudo demonstra que o exercício não foi eficiente em aumentar a transcrição do gene *Pparγ* em comparação com animais do grupo obeso sedentário¹³¹. Já Castellani e colaboradores, avaliaram o efeito de quatro semanas de exercício aeróbio sobre o conteúdo proteico de PPARγ no tecido adiposo epididimal de animais obesos. O estudo demonstrou que o exercício não foi eficiente em aumentar a quantidade da proteína PPARγ quando comparado com o grupo obeso sedentário¹³⁰. Aqui, pudemos observar que apenas o grupo obeso sedentário foi capaz de aumentar a transcrição gênica de *Pparγ* em comparação ao grupo controle e obeso treinado. No entanto, quando o conteúdo proteico total de PPARγ foi avaliado, ambos os grupos obeso aumentaram os níveis da proteína quando comparados com o grupo controle, não sendo encontrado os efeitos do exercício. Possivelmente, essa relação entre expressão gênica e formação proteica no grupo obeso treinado não ocorreu devido aos efeitos positivos do treinamento em minimizar o estímulo de diferenciação de células pré-adipócitos em adipócitos maduros, uma vez que a obesidade é responsável pelo aumento da expressão de PPARγ com a finalidade de formar novas células de tecido adiposo¹³³.

Para auxiliar a PPARγ no processo de bequeamento do tecido adiposo branco a PGC-1α demonstra ser uma proteína importante para que ocorra a sinalização nuclear no adipócito¹⁶⁰. Ao longo do tempo diferentes estímulos demonstraram ser capazes de promover o aumento do

conteúdo de PGC-1 α no TAB^{93,161}. Sabendo disso, Stephenson e colaboradores buscaram avaliar se o exercício seria capaz de atuar nesse processo, e após seis semanas de exercício aeróbio, foi possível observar que o exercício não foi eficiente em aumentar o conteúdo proteico de PGC-1 α no tecido adiposo subcutâneo de animais treinados quando comparado aos animais sedentários¹³⁴. Em estudo realizado por Norheim et al. (2014), foi avaliado homens saudáveis e homens com sobrepeso, ambos submetidos ao protocolo de treinamento combinado durante doze semanas. Após as análises, os autores não encontraram diferença na expressão do gene *Pgc-1 α* no TAs dos indivíduos que realizaram protocolo de treinamento em comparação com o grupo sobrepeso⁸⁴. Entretanto, Wu e colaboradores observaram que oito semanas de treinamento de resistência foi capaz de induzir o aumento dos níveis de PGC-1 α no tecido adiposo inguinal de animais obeso treinado em comparação com o grupo obeso sedentário¹⁶². Já o presente estudo ao analisar o conteúdo gênico e proteico de *Pgc-1 α* , demonstrou que o treino de força de curta duração não foi eficaz em aumentar os níveis de PGC-1 α no TAs de animais treinados em comparação com os animais obeso sedentário. Nesse sentido, tais mudanças, talvez, poderiam ter sido observadas caso fosse analisado outro tecido adiposo branco, como demonstrado nos artigos já apresentados.

Completando o complexo de proteínas responsáveis pela sinalização de transcrição de UCP1, a PRDM16 demonstra ter um papel fundamental na transmissão do sinal para o núcleo da célula adiposa¹⁶³. Com o objetivo de descrever a importância do exercício nesse processo, Stanford et al. (2015), demonstraram que o treinamento aeróbio em esteira realizado durante onze dias foi capaz de promover o aumento nos níveis do gene *Prdm16* no tecido adiposo branco de animais obesos treinado⁹¹. No mesmo sentido, Khalafi e colaboradores avaliaram os efeitos do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), por doze semanas, na expressão de PRDM16 em animais obesos, ao término das análises foi demonstrado que o exercício HIIT foi eficiente em aumentar o conteúdo proteico do PRDM16 quando comparado ao grupo sedentário¹³⁷. No presente estudo, demonstramos que o treinamento de força de curta duração foi capaz de aumentar os níveis do gene *Prdm16* no grupo OBexT em comparação aos grupos CT e OBS. Concomitantemente, observamos o aumento no conteúdo proteico total de PRDM16 para o grupo exercitado quando comparado ao grupo controle. Acreditamos que o tempo de intervenção não foi o adequado para observarmos alterações na quantidade proteica de PRDM16 entre os grupos obesos.

Por fim, avaliamos os efeitos do TFCD na transcrição gênica e na expressão proteica de UCP1 no TAs. Com o intuito de avaliar os efeitos do exercício na expressão do gene *Ucp1* no TAB, Schaalan et al. (2017) induziram animais obesos a seis semanas de treinamento combinado, após o

período de exercício, foi possível observar o aumento de *Ucp1* no tecido adiposo inguinal do grupo que realizou o protocolo de treinamento quando comparado ao grupo obeso sedentário¹³⁹. No entanto, quando Rachel et al. avaliaram o conteúdo proteico de UCP1 após induzir os animais a doze semanas de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), não foi possível encontrar diferença nos níveis de UCP1 no tecido adiposo epididimal e retroperitoneal, dos animais que realizaram o protocolo de alta intensidade em comparação com o grupo obeso sedentário¹⁴⁰. No presente estudo, demonstramos que o exercício de força de curta duração foi capaz de aumentar os níveis gênicos de *Ucp1* no grupo OBexT em comparação com os grupos CT e OBS. No entanto, não foi observado aumento entre os grupos obeso sedentário e obeso treinado para o conteúdo proteico de UCP1 no TAs após as sete sessões de treinamento. Curiosamente, nossos achados não apresentam uma relação entre o conteúdo proteico e a transcrição gênica de UCP1. Assim, acreditamos que o período de treinamento não foi eficaz nas alterações necessárias para a tradução do RNAm e por conseguinte formar a proteína UCP1 no tecido adiposo subcutâneo.

7. CONCLUSÃO

De acordo com nossos achados acima elucidados, podemos concluir que apenas sete sessões de treino de força foi capaz de reduzir a resistência à insulina. Houve, ainda, diminuição dos níveis de ácidos graxos saturados, poliinsaturados, palmítico e α -linoleico analisados no TAs. No entanto, os animais treinados não apresentaram modulação expressiva das proteínas responsáveis pelo begeamento quando comparados com o grupo obeso sedentário. Por outro lado, pudemos observar que o treinamento de força de curta duração promoveu adaptações dos genes *Prdm16* e *Ucp1* relacionadas ao begeamento do TAs. Portanto, os achados demonstram o início da alteração do tecido adiposo branco demonstrando a importância do treinamento de forma crônica, pensando no aumento do gasto energético basal de indivíduos obesos e, assim, colaborar com o tratamento da obesidade e suas comorbidades.

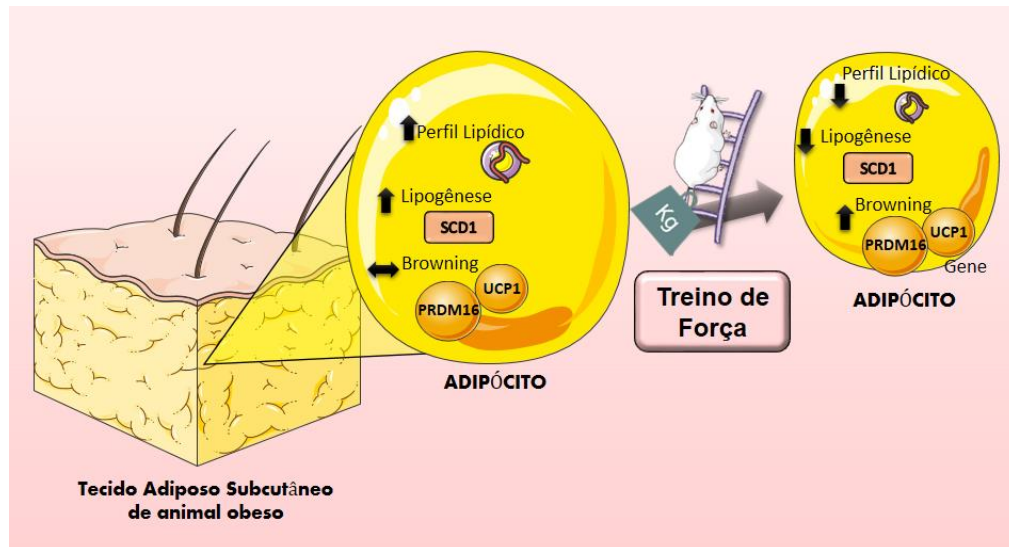


Figura 8. Conclusão. O treino de força de curta duração é responsável pela diminuição da expressão de SCD1, consequentemente, houve redução do perfil lipídico de ácidos graxos poliinsaturados e do ácido graxo α -linolênico. Além disso, o exercício de força foi responsável pela leve alteração na expressão gênica de Prdm16 e Ucp1. Isso resulta no início do processo de begeamento do tecido adiposo branco.

8. REFERÊNCIAS

1. Mazzocante, R. P., Moraes, F. V. N. De & Campbell, C. S. G. Gastos públicos diretos com a obesidade e doenças associadas no Brasil. *Rev Ciênc Méd* 21, 25–34 (2012).
2. Kopelman, P. G. Obesity as a medical problem. *Nature* (2000) doi:10.1038/35007508.
3. Flegal, K. M., Kit, B. K., Orpana, H. & Graubard, B. I. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories a systematic review and meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association* (2013) doi:10.1001/jama.2012.113905.
4. UNICEF. Unicef's approach to scaling up nutrition. *UNICEF's approach to scaling up Nutr. mothers their Child.* (2015).
5. Geserick, M. *et al.* Acceleration of BMI in early childhood and risk of sustained obesity. *N. Engl. J. Med.* (2018) doi:10.1056/NEJMoA1803527.
6. Saltiel, A. R. & Olefsky, J. M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation* (2017) doi:10.1172/JCI92035.
7. Montonen, J. *et al.* Food consumption and the incidence of type II diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Nutr.* (2005) doi:10.1038/sj.ejcn.1602094.
8. WHO. Cardiovascular diseases (CVDs) fact sheets. *Who* (2016).
9. Benjamin, E. J. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* (2019) doi:10.1161/CIR.0000000000000659.
10. Mandviwala, T., Khalid, U. & Deswal, A. Obesity and Cardiovascular Disease: a Risk Factor or a Risk Marker? *Current Atherosclerosis Reports* (2016) doi:10.1007/s11883-016-0575-4.
11. Csige, I. *et al.* The Impact of Obesity on the Cardiovascular System. *Journal of Diabetes Research* (2018) doi:10.1155/2018/3407306.
12. Musi, N. & Guardado-Mendoza, R. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Cell. Endocrinol. Heal. Dis.* 89, 229–237 (2014).
13. Gilbert, J. A. *et al.* Current understanding of the human microbiome. *Nat. Med.* (2018) doi:10.1038/nm.4517.
14. Dinarello, C. A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood* (2011) doi:10.1182/blood-2010-07-273417.
15. Fonseca-alaniz, M. H., Alonso-vale, M. I. C. & Lima, F. B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. *Endocrinol. Metab.* 50, 216–229 (2006).
16. Burhans, M. S., Hagman, D. K., Kuzma, J. N., Schmidt, K. A. & Kratz, M. Contribution of adipose tissue inflammation to the development of type 2 diabetes mellitus. *Compr. Physiol.* (2019) doi:10.1002/cphy.c170040.
17. Withers, D. J. *et al.* Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 391, 900–904

(1998).

18. Spriet, L. L. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. *Med. Sci. Sports Exerc.* 34, 1477–84 (2002).
19. Chylikova, J., Dvorackova, J., Tauber, Z. & Kamarad, V. M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue. *Biomed. Pap.* (2018) doi:10.5507/bp.2018.015.
20. Xu, H. *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* (2003) doi:10.1172/JCI200319451.
21. Chen, X. *et al.* FPR2 deficiency alleviates diet-induced insulin resistance through reducing body weight gain and inhibiting inflammation mediated by macrophage chemotaxis and M1 polarization. *Diabetes* (2019) doi:10.2337/db18-0469.
22. Sohn, J. H. *et al.* Perilipin 1 (Plin1) deficiency promotes inflammatory responses in lean adipose tissue through lipid dysregulation. *J. Biol. Chem.* (2018) doi:10.1074/jbc.RA118.003541.
23. Al-Rashed, F. *et al.* TNF- α induces a pro-inflammatory phenotypic shift in monocytes through ACSL1: Relevance to metabolic inflammation. *Cell. Physiol. Biochem.* (2019) doi:10.33594/0000000028.
24. Kahn, S. E., Hull, R. L. & Utzschneider, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* (2006) doi:10.1038/nature05482.
25. Lee, B. C. & Lee, J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* (2014) doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.017.
26. Lizunov, V. A., Stenkula, K., Troy, A., Cushman, S. W. & Zimmerberg, J. Insulin Regulates Glut4 Confinement in Plasma Membrane Clusters in Adipose Cells. *PLoS One* (2013) doi:10.1371/journal.pone.0057559.
27. Botezelli, J. D. *et al.* Strength Training Prevents Hyperinsulinemia, Insulin Resistance, and Inflammation Independent of Weight Loss in Fructose-Fed Animals. *Sci. Rep.* 6, 1–13 (2016).
28. Maffeis, C. & Morandi, A. Body composition and insulin resistance in children. *European Journal of Clinical Nutrition* (2018) doi:10.1038/s41430-018-0239-2.
29. Ighbariya, A. & Weiss, R. Insulin Resistance, Prediabetes, Metabolic Syndrome: What Should Every Pediatrician Know? *Journal of clinical research in pediatric endocrinology* (2017) doi:10.4274/jcrpe.2017.S005.
30. Carling, D. AMPK signalling in health and disease. *Current Opinion in Cell Biology* (2017) doi:10.1016/j.ceb.2017.01.005.
31. Desjardins, E. M. & Steinberg, G. R. Emerging Role of AMPK in Brown and Beige Adipose Tissue (BAT): Implications for Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reports* (2018) doi:10.1007/s11892-018-1049-6.

32. Kim, S.-J. *et al.* AMPK Phosphorylates Desnutrin/ATGL and Hormone-Sensitive Lipase To Regulate Lipolysis and Fatty Acid Oxidation within Adipose Tissue. *Mol. Cell. Biol.* (2016) doi:10.1128/mcb.00244-16.
33. Sanders, M. A. *et al.* Endogenous and Synthetic ABHD5 Ligands Regulate ABHD5-Perilipin Interactions and Lipolysis in Fat and Muscle. *Cell Metab.* (2015) doi:10.1016/j.cmet.2015.08.023.
34. Nielsen, T. S., Jessen, N., Jørgensen, J. O. L., Møller, N. & Lund, S. Dissecting adipose tissue lipolysis: Molecular regulation and implications for metabolic disease. *Journal of Molecular Endocrinology* (2014) doi:10.1530/JME-13-0277.
35. Bolsoni-Lopes, A. & Alonso-Vale, M. I. C. Lipolysis and lipases in white adipose tissue – An update. *Archives of Endocrinology and Metabolism* (2015) doi:10.1590/2359-39970000000067.
36. Gonçalves, R. V. *et al.* Trans-fatty acids aggravate anabolic steroid-induced metabolic disturbances and differential gene expression in muscle, pancreas and adipose tissue. *Life Sci.* (2019) doi:10.1016/j.lfs.2019.116603.
37. Leandro, J. G. B. *et al.* Exogenous citrate impairs glucose tolerance and promotes visceral adipose tissue inflammation in mice. *Br. J. Nutr.* (2016) doi:10.1017/S0007114516000027.
38. Zhao, S. *et al.* ATP-Citrate Lyase Controls a Glucose-to-Acetate Metabolic Switch. *Cell Rep.* (2016) doi:10.1016/j.celrep.2016.09.069.
39. Mottillo, E. P. *et al.* FGF21 does not require adipocyte AMP-activated protein kinase (AMPK) or the phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase (ACC) to mediate improvements in whole-body glucose homeostasis. *Mol. Metab.* (2017) doi:10.1016/j.molmet.2017.04.001.
40. Porstmann, T. *et al.* PKB/Akt induces transcription of enzymes involved in cholesterol and fatty acid biosynthesis via activation of SREBP. *Oncogene* (2005) doi:10.1038/sj.onc.1208802.
41. Lian, J. & Zhao, H. Recent advances in biosynthesis of fatty acids derived products in *Saccharomyces cerevisiae* via enhanced supply of precursor metabolites. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* (2014) doi:10.1007/s10295-014-1518-0.
42. Oliveira, A. G. *et al.* Acute exercise induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization in diet-induced obese rats. *Obesity* (2013) doi:10.1002/oby.20402.
43. Ahmadi-Kani Golzar, F., Fathi, R. & Mahjoub, S. High-fat diet leads to adiposity and adipose tissue inflammation: The effect of whey protein supplementation and aerobic exercise training. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* (2019) doi:10.1139/apnm-2018-0307.
44. Guedes, J. M. *et al.* Muscular resistance, hypertrophy and strength training equally reduce adiposity, inflammation and insulin resistance in mice with diet-induced obesity. *Einstein (Sao Paulo)*. (2020) doi:10.31744/einstein_journal/2020AO4784.
45. Wang, Y. M., Liu, H. X. & Fang, N. Y. 9-PAHSA promotes browning of white fat via activating G-protein-coupled receptor 120 and inhibiting lipopolysaccharide / NF-kappa B pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 506, 153–160 (2018).

46. Kolahdouzi, S., Talebi-Garakani, E., Hamidian, G. & Safarzade, A. Exercise training prevents high-fat diet-induced adipose tissue remodeling by promoting capillary density and macrophage polarization. *Life Sci.* (2019) doi:10.1016/j.lfs.2019.01.037.
47. Seo, Y. J., Kim, K. J., Choi, J., Koh, E. J. & Lee, B. Y. Spirulina maxima extract reduces obesity through suppression of adipogenesis and activation of browning in 3T3-L1 cells and high-fat diet-induced obese mice. *Nutrients* (2018) doi:10.3390/nu10060712.
48. Janzen, N. R., Whitfield, J. & Hoffman, N. J. Interactive roles for ampk and glycogen from cellular energy sensing to exercise metabolism. *International Journal of Molecular Sciences* (2018) doi:10.3390/ijms19113344.
50. Reidy, P. T. *et al.* Aging-related effects of bed rest followed by eccentric exercise rehabilitation on skeletal muscle macrophages and insulin sensitivity. *Exp. Gerontol.* (2018) doi:10.1016/j.exger.2017.07.001.
51. Silveira, L. S. *et al.* Exercise rescues the immune response fine-tuned impaired by peroxisome proliferator-activated receptors γ deletion in macrophages. *J. Cell. Physiol.* (2019) doi:10.1002/jcp.27333.
52. Sambuceti, G. *et al.* Diabetes Impairs the Vascular Recruitment of Normal Stem Cells by Oxidant Damage, Reversed by Increases in pAMPK, Heme Oxygenase-1, and Adiponectin. *Stem Cells* (2009) doi:10.1634/stemcells.2008-0800.
53. Egan, D. F. *et al.* Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science* (80-.). (2011) doi:10.1126/science.1196371.
54. Garcia, D. & Shaw, R. J. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular Cell* (2017) doi:10.1016/j.molcel.2017.05.032.
55. Higa, T. S., Spinola, A. V., Fonseca-Alaniz, M. H. & Evangelista, F. S. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life Sci.* (2014) doi:10.1016/j.lfs.2014.02.039.
56. Yang, X. *et al.* Predictive and preventive significance of AMPK activation on hepatocarcinogenesis in patients with liver cirrhosis article. *Cell Death Dis.* (2018) doi:10.1038/s41419-018-0308-4.
57. Huang, B. P. *et al.* AMPK activation inhibits expression of proinflammatory mediators through downregulation of PI3K/p38 MAPK and NF- κ B signaling in murine macrophages. *DNA Cell Biol.* 34, 133–141 (2015).
58. Thirupathi, A. *et al.* Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *J. Physiol. Biochem.* 75, 101–108 (2019).
59. Barroso, W. A. *et al.* High-fat diet inhibits PGC-1 α suppressive effect on NF κ B signaling in hepatocytes. *Eur. J. Nutr.* (2018) doi:10.1007/s00394-017-1472-5.
60. Woo, J. & Kang, S. Diet change and exercise enhance protein expression of CREB, CRTC 2 and lipolytic enzymes in adipocytes of obese mice. *Lipids Health Dis.* (2016) doi:10.1186/s12944-016-0316-2.

61. Américo, A. L. V. *et al.* Aerobic exercise training prevents obesity and insulin resistance independent of the renin angiotensin system modulation in the subcutaneous white adipose tissue. *PLoS One* (2019) doi:10.1371/journal.pone.0215896.
62. de las Heras, N. *et al.* Chronic exercise improves mitochondrial function and insulin sensitivity in brown adipose tissue. *Front. Physiol.* (2018) doi:10.3389/fphys.2018.01122.
63. Chen, Y. C. *et al.* Feeding influences adipose tissue responses to exercise in overweight men. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2017) doi:10.1152/ajpendo.00006.2017.
64. Ramos, S. V., Turnbull, P. C. & MacPherson, R. E. K. Adipose tissue depot specific differences of PLIN protein content in endurance trained rats. *Adipocyte* (2016) doi:10.1080/21623945.2016.1157672.
65. Louche, K. *et al.* Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2013) doi:10.1210/jc.2013-2058.
66. Petridou, A. *et al.* Increased triacylglycerol lipase activity in adipose tissue of lean and obese men during endurance exercise. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2017) doi:10.1210/jc.2017-00168.
67. Ogasawara, J. *et al.* Hormone-sensitive lipase is critical mediators of acute exercise-induced regulation of lipolysis in rat adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2010) doi:10.1016/j.bbrc.2010.08.026.
68. Marcinko, K. *et al.* High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol. Metab.* (2015) doi:10.1016/j.molmet.2015.09.006.
69. Takekoshi, K. *et al.* Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue and liver. *Metabolism.* (2006) doi:10.1016/j.metabol.2006.04.007.
70. Ruderman, N. B. *et al.* AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. in *Acta Physiologica Scandinavica* (2003). doi:10.1046/j.1365-201X.2003.01164.x.
71. Pereira, R. M. *et al.* Short-term strength training reduces gluconeogenesis and NAFLD in obese mice. *J. Endocrinol.* (2019) doi:10.1530/JOE-18-0567.
72. Giles, E. D. *et al.* Exercise decreases lipogenic gene expression in adipose tissue and alters adipocyte cellularity during weight regain after weight loss. *Front. Physiol.* (2016) doi:10.3389/fphys.2016.00032.
73. Artunc, F. *et al.* The impact of insulin resistance on the kidney and vasculature. *Nature Reviews Nephrology* (2016) doi:10.1038/nrneph.2016.145.
74. Brown, A. E. & Walker, M. Genetics of Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome. *Current Cardiology Reports* (2016) doi:10.1007/s11886-016-0755-4.
75. Baskin, A. S. *et al.* Regulation of human adipose tissue activation, gallbladder size, and bile acid metabolism by A b3-adrenergic receptor agonist. *Diabetes* (2018) doi:10.2337/db18-

0462.

76. Fedorenko, A., Lishko, P. V. & Kirichok, Y. Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell* (2012) doi:10.1016/j.cell.2012.09.010.
77. Bargut, T. C. L., Souza-Mello, V., Aguila, M. B. & Mandarim-De-Lacerda, C. A. Browning of white adipose tissue: Lessons from experimental models. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* (2017) doi:10.1515/hmbci-2016-0051.
78. Bartelt, A. & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nature Reviews Endocrinology* (2014) doi:10.1038/nrendo.2013.204.
79. Zhang, F. *et al.* An Adipose Tissue Atlas: An Image-Guided Identification of Human-like BAT and Beige Depots in Rodents. *Cell Metab.* (2018) doi:10.1016/j.cmet.2017.12.004.
80. Boström, P. *et al.* A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481, 463–468 (2012).
81. Fromme, T. & Klingenspor, M. Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* (2011) doi:10.1152/ajpregu.00411.2010.
82. Li, S. *et al.* Sildenafil induces browning of subcutaneous white adipose tissue in overweight adults. *Metabolism*. (2018) doi:10.1016/j.metabol.2017.09.008.
83. Pérez-Martí, A. *et al.* A low-protein diet induces body weight loss and browning of subcutaneous white adipose tissue through enhanced expression of hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21). *Mol. Nutr. Food Res.* (2017) doi:10.1002/mnfr.201600725.
84. Norheim, F. *et al.* The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* (2014) doi:10.1111/febs.12619.
85. Nedergaard, J. & Cannon, B. The browning of white adipose tissue: Some burning issues. *Cell Metabolism* (2014) doi:10.1016/j.cmet.2014.07.005.
86. Swift, D. L. *et al.* The Effects of Exercise and Physical Activity on Weight Loss and Maintenance. *Progress in Cardiovascular Diseases* (2018) doi:10.1016/j.pcad.2018.07.014.
87. Kim, K.-B. *et al.* Effects of Exercise on the Body Composition and Lipid Profile of Individuals with Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Obes. Metab. Syndr.* (2019) doi:10.7570/jomes.2019.28.4.278.
88. Marson, E. C., Delevatti, R. S., Prado, A. K. G., Netto, N. & Kruel, L. F. M. Effects of aerobic, resistance, and combined exercise training on insulin resistance markers in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Preventive Medicine* (2016) doi:10.1016/j.ypmed.2016.10.020.
89. Boström, P. *et al.* A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* (2012) doi:10.1038/nature10777.
90. Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W. & Goodyear, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: Beiging and metabolic adaptations. *Diabetes* (2015) doi:10.2337/db15-0227.

91. Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W. & Goodyear, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: Beiging and metabolic adaptations. *Diabetes* 64, 2361–2368 (2015).
92. Cao, L. *et al.* White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis. *Cell Metab.* (2011) doi:10.1016/j.cmet.2011.06.020.
93. Ziegler, A. K. *et al.* An anti-inflammatory phenotype in visceral adipose tissue of old lean mice, augmented by exercise. *Sci. Rep.* (2019) doi:10.1038/s41598-019-48587-2.
94. Wall, C. E., Yu, R. T., Atkins, A. R., Downes, M. & Evans, R. M. Nuclear receptors and AMPK: Can exercise mimetics cure diabetes? *Journal of Molecular Endocrinology* (2016) doi:10.1530/JME-16-0073.
95. Methenitis, S. A Brief Review on Concurrent Training: From Laboratory to the Field. *Sports* (2018) doi:10.3390/sports6040127.
96. Reisi, J., Ghaedi, K., Rajabi, H. & Mohammad Marandi, S. Can resistance exercise alter irisin levels and expression profiles of *fnDC5* and *ucp1* in rats? *Asian J. Sports Med.* (2016) doi:10.5812/asjms.35205.
97. Picoli, C. de C. *et al.* Resistance exercise training induces subcutaneous and visceral adipose tissue browning in Swiss mice. *J. Appl. Physiol.* (2020) doi:10.1152/jappphysiol.00742.2019.
98. Thirupathi, A. *et al.* Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *J. Physiol. Biochem.* (2019) doi:10.1007/s13105-019-00663-x.
99. Chooi, Y. C., Ding, C. & Magkos, F. The epidemiology of obesity. *Metabolism.* (2019) doi:10.1016/j.metabol.2018.09.005.
100. Smith, K. B. & Smith, M. S. Obesity Statistics. *Primary Care - Clinics in Office Practice* (2016) doi:10.1016/j.pop.2015.10.001.
101. Banerji, M. A. & Chaiken, R. L. Insulin resistance and the metabolic syndrome. in *Principles of Diabetes Mellitus* (2010). doi:10.1007/978-0-387-09841-8-34.
102. Norheim, F. *et al.* The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* 281, 739–749 (2014).
103. Bartelt, A. & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. (2013) doi:10.1038/nrendo.2013.204.
104. SYROVÝ, I. *et al.* Decreased fatty acid synthesis due to mitochondrial uncoupling in adipose tissue. *FASEB J.* 14, 1793–1800 (2002).
105. Thyagarajan, B. & Foster, M. T. Beiging of white adipose tissue as a therapeutic strategy for weight loss in humans. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* (2017) doi:10.1515/hmbci-2017-0016.
106. Mi, Y. *et al.* EGCG stimulates the recruitment of brite adipocytes, suppresses adipogenesis

- and counteracts TNF- α -triggered insulin resistance in adipocytes. *Food Funct.* (2018) doi:10.1039/c8fo00167g.
107. Hornberger, T. A. & Farrar, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can. J. Appl. Physiol.* (2004) doi:10.1139/h04-002.
 108. Zhang, Y. *et al.* Irisin exerts dual effects on browning and adipogenesis of human white adipocytes. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2016) doi:10.1152/ajpendo.00094.2016.
 109. Zhang, J. *et al.* Exercise-induced irisin in bone and systemic irisin administration reveal new regulatory mechanisms of bone metabolism. *Bone Res.* (2017) doi:10.1038/boneres.2016.56.
 110. Nakandakari, S. C. B. R. *et al.* Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain. Behav. Immun.* (2019) doi:10.1016/j.bbi.2019.02.016.
 111. Clark, E. *et al.* Influence of aerobic exercise on maternal lipid levels and offspring morphometrics. *Int. J. Obes.* (2019) doi:10.1038/s41366-018-0258-z.
 112. Reeves, P. G., Nielsen, F. H. & Fahey, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* (1993) doi:10.1093/jn/123.11.1939.
 113. Cintra, D. E. *et al.* Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One* (2012) doi:10.1371/journal.pone.0030571.
 114. Choi, E. Y., Jin, J. Y., Choi, J. Il, Choi, I. S. & Kim, S. J. DHA suppresses Prevotella intermedia lipopolysaccharide-induced production of proinflammatory mediators in murine macrophages. *Br. J. Nutr.* (2014) doi:10.1017/S0007114513003681.
 115. Rocha-Rodrigues, S. *et al.* Impact of physical exercise on visceral adipose tissue fatty acid profile and inflammation in response to a high-fat diet regimen. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2017) doi:10.1016/j.biocel.2017.04.008.
 116. Sutherland, W. H. F., Woodhouse, S. P. & Heyworth, M. R. Physical training and adipose tissue fatty acid composition in men. *Metabolism* (1981) doi:10.1016/0026-0495(81)90061-5.
 117. Jarc, E. & Petan, T. Lipid droplets and the management of cellular stress. *Yale Journal of Biology and Medicine* (2019).
 118. Kurauti, M. A. *et al.* Acute exercise restores insulin clearance in diet-induced obese mice. *J. Endocrinol.* (2016) doi:10.1530/JOE-15-0483.
 119. Halling, J. F., Ringholm, S., Nielsen, M. M., Overby, P. & Pilegaard, H. PGC-1 α promotes exercise-induced autophagy in mouse skeletal muscle. *Physiol. Rep.* (2016) doi:10.14814/phy2.12698.
 120. Wohlers, L. M., Jackson, K. C. & Spangenburg, E. E. Lipolytic signaling in response to acute exercise is altered in female mice following ovariectomy. *J. Cell. Biochem.* (2011) doi:10.1002/jcb.23302.

121. Ko, K. *et al.* Exercise training improves intramuscular triglyceride lipolysis sensitivity in high-fat diet induced obese mice. *Lipids Health Dis.* (2018) doi:10.1186/s12944-018-0730-8.
122. Patel, S., Yang, W., Kozusko, K., Saudek, V. & Savage, D. B. Perilipins 2 and 3 lack a carboxy-terminal domain present in perilipin 1 involved in sequestering ABHD5 and suppressing basal lipolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2014) doi:10.1073/pnas.1318791111.
123. Yao-Borengasser, A. *et al.* Adipose triglyceride lipase expression in human adipose tissue and muscle. Role in insulin resistance and response to training and pioglitazone. *Metabolism.* (2011) doi:10.1016/j.metabol.2010.10.005.
124. Chen, N. *et al.* Effects of treadmill running and rutin on lipolytic signaling pathways and TRPV4 protein expression in the adipose tissue of diet-induced obese mice. *J. Physiol. Biochem.* (2015) doi:10.1007/s13105-015-0437-5.
125. la Fuente, F. P. de *et al.* Exercise regulates lipid droplet dynamics in normal and fatty liver. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* (2019) doi:10.1016/j.bbalip.2019.158519.
126. Montenegro, M. L. *et al.* Effect of Physical Exercise on Endometriosis Experimentally Induced in Rats. *Reprod. Sci.* (2019) doi:10.1177/1933719118799205.
127. Lee, H. J., Le, B., Lee, D. R., Choi, B. K. & Yang, S. H. Cissus quadrangularis extract (CQR-300) inhibits lipid accumulation by downregulating adipogenesis and lipogenesis in 3T3-L1 cells. *Toxicol. Reports* (2018) doi:10.1016/j.toxrep.2018.02.008.
128. Stotzer, U. S. *et al.* Resistance training suppresses intra-abdominal fatty acid synthesis in ovariectomized rats. *Int. J. Sports Med.* (2015) doi:10.1055/s-0034-1390494.
129. Song, N. J., Chang, S. H., Li, D. Y., Villanueva, C. J. & Park, K. W. Induction of thermogenic adipocytes: Molecular targets and thermogenic small molecules. *Experimental and Molecular Medicine* (2017) doi:10.1038/emm.2017.70.
130. Castellani, L., Root-McCaig, J., Frendo-Cumbo, S., Beaudoin, M. S. & Wright, D. C. Exercise training protects against an acute inflammatory insult in mouse epididymal adipose tissue. *J. Appl. Physiol.* (2014) doi:10.1152/jappphysiol.00074.2014.
131. Reynolds, T. H. *et al.* Effects of a high fat diet and voluntary wheel running exercise on cidea and cidec expression in liver and adipose tissue of mice. *PLoS One* (2015) doi:10.1371/journal.pone.0130259.
132. Petridou, A. *et al.* Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ in rat adipose tissue. *Metabolism.* (2007) doi:10.1016/j.metabol.2007.03.011.
133. de sá, P. M., Richard, A. J., Hang, H. & Stephens, J. M. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Compr. Physiol.* (2017) doi:10.1002/cphy.c160022.
134. Stephenson, E. J. *et al.* Exercise training enhances white adipose tissue metabolism in rats selectively bred for low- or high-endurance running capacity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2013) doi:10.1152/ajpendo.00544.2012.

135. Wang, S., Pan, M. H., Hung, W. L., Tung, Y. C. & Ho, C. T. From white to beige adipocytes: Therapeutic potential of dietary molecules against obesity and their molecular mechanisms. *Food and Function* (2019) doi:10.1039/c8fo02154f.
136. Lee, H. E. *et al.* Anti-obesity potential of Glycyrrhiza uralensis and licochalcone A through induction of adipocyte browning. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2018) doi:10.1016/j.bbrc.2018.07.168.
137. Khalafi, M. *et al.* The Impact of Moderate-Intensity Continuous or High-Intensity Interval Training on Adipogenesis and Browning of Subcutaneous Adipose Tissue in Obese Male Rats. *Nutrients* (2020) doi:10.3390/nu12040925.
138. Chi, J. *et al.* Three-Dimensional Adipose Tissue Imaging Reveals Regional Variation in Beige Fat Biogenesis and PRDM16-Dependent Sympathetic Neurite Density. *Cell Metab.* (2018) doi:10.1016/j.cmet.2017.12.011.
139. Schaalan, M. F., Ramadan, B. K. & Abd Elwahab, A. H. Synergistic effect of carnosine on browning of adipose tissue in exercised obese rats; a focus on circulating irisin levels. *J. Cell. Physiol.* (2018) doi:10.1002/jcp.26370.
140. Davis, R. A. H. *et al.* High-intensity interval training and calorie restriction promote remodeling of glucose and lipid metabolism in diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* (2017) doi:10.1152/ajpendo.00445.2016.
141. Otero-Díaz, B. *et al.* Exercise Induces White Adipose Tissue Browning Across the Weight Spectrum in Humans. *Front. Physiol.* (2018) doi:10.3389/fphys.2018.01781.
142. Speretta, G. F. *et al.* Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet. *Life Sci.* (2016) doi:10.1016/j.lfs.2016.01.011.
143. Matthews, J. N. S., Altman, D. G., Campbell, M. J. & Royston, P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br. Med. J.* (1990) doi:10.1136/bmj.300.6725.680-a.
144. Walker, J. M. The bicinchoninic acid (BCA) assay for protein quantitation. *Methods Mol. Biol.* 32, 5–8 (1994).
145. Friedewald, W. T., Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* (1972) doi:10.1093/clinchem/18.6.499.
146. FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* (1957) doi:10.3989/scimar.2005.69n187.
147. Shirai, N., Suzuki, H. & Wada, S. Direct methylation from mouse plasma and from liver and brain homogenates. *Anal. Biochem.* (2005) doi:10.1016/j.ab.2005.04.037.
148. Cintra, D. E. C. *et al.* Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. *Nutrition* (2006) doi:10.1016/j.nut.2005.09.003.
149. Motahari-Tabari, N., Ahmad Shirvani, M., Shirzad-E-Ahoodashty, M., Yousefi-Abdolmaleki, E. & Teimourzadeh, M. The effect of 8 weeks aerobic exercise on insulin

- resistance in type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Glob. J. Health Sci.* (2015) doi:10.5539/gjhs.v7n1p115.
150. Van Gaal, L. F., Mertens, I. L. & De Block, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* (2006) doi:10.1038/nature05487.
 151. Villarroya, F., Cereijo, R., Villarroya, J. & Giralt, M. Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology* (2017) doi:10.1038/nrendo.2016.136.
 152. Gan, L. *et al.* Foxc2 coordinates inflammation and browning of white adipose by leptin-STAT3-PRDM16 signal in mice. *Int. J. Obes.* (2018) doi:10.1038/ijo.2017.208.
 153. Lehnig, A. C. & Stanford, K. I. Exercise-induced adaptations to white and brown adipose tissue. *Journal of Experimental Biology* (2018) doi:10.1242/jeb.161570.
 154. Zhang, Y. *et al.* Fibroblast growth factor 21 induces lipolysis more efficiently than it suppresses lipogenesis in goat adipocytes. *Cytotechnology* (2018) doi:10.1007/s10616-018-0237-1.
 155. Tirinato, L. *et al.* An Overview of Lipid Droplets in Cancer and Cancer Stem Cells. *Stem Cells International* (2017) doi:10.1155/2017/1656053.
 156. Blomquist, C. *et al.* Decreased lipogenesis-promoting factors in adipose tissue in postmenopausal women with overweight on a Paleolithic-type diet. *Eur. J. Nutr.* (2018) doi:10.1007/s00394-017-1558-0.
 157. Parray, H. A., Lone, J., Park, J. P., Choi, J. W. & Yun, J. W. Magnolol promotes thermogenesis and attenuates oxidative stress in 3T3-L1 adipocytes. *Nutrition* (2018) doi:10.1016/j.nut.2018.01.017.
 158. Martínez-Sánchez, N. *et al.* Thyroid hormones induce browning of white fat. *J. Endocrinol.* (2017) doi:10.1530/JOE-16-0425.
 159. Palacios-González, B. *et al.* Genistein increases the thermogenic program of subcutaneous WAT and increases energy expenditure in mice. *J. Nutr. Biochem.* (2019) doi:10.1016/j.jnutbio.2019.03.012.
 160. Chen, Y.-S., Liu, H.-M. & Lee, T.-Y. Ursodeoxycholic Acid Regulates Hepatic Energy Homeostasis and White Adipose Tissue Macrophages Polarization in Leptin-Deficiency Obese Mice. *Cells* (2019) doi:10.3390/cells8030253.
 161. Lemecha, M. *et al.* MiR-494-3p regulates mitochondrial biogenesis and thermogenesis through PGC1- α signalling in beige adipocytes. *Sci. Rep.* (2018) doi:10.1038/s41598-018-33438-3.
 162. Wu, M. V., Bikopoulos, G., Hung, S. & Ceddia, R. B. Thermogenic capacity is antagonistically regulated in classical brown and white subcutaneous fat depots by high fat diet and endurance training in rats: Impact on whole-body energy expenditure. *J. Biol. Chem.* (2014) doi:10.1074/jbc.M114.591008.
 163. Seale, P. *et al.* Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J. Clin. Invest.* (2011) doi:10.1172/JCI44271.

APÊNDICE

APÊNDICE 1: Certificação de Curso em Manipulação Animal

	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS Comissão de Ética no Uso de Animais	 CEUA/UNICAMP
Certificamos que DIEGO GOMES DE MELO concluiu o curso online Legislação e procedimentos para utilização de animais de laboratório, oferecido pelo Instituto de Biologia da UNICAMP e pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Laboratório - CEUA/UNICAMP. Este certificado tem validade de 02 (dois) anos a partir da data de emissão. Campinas, 30 de julho de 2019.  Prof. Dr. Wagner José Fávaro Professor Assistente Doutor Presidente da CEUA/UNICAMP		

APÊNDICE 2: Aprovação comitê de ética de uso animal (CEUA)



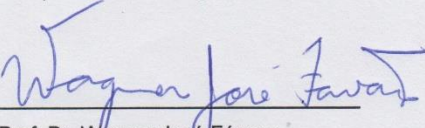
CERTIFICADO

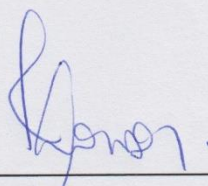
Certificamos que a proposta intitulada **EFEITOS DO EXERCÍCIO NA INFILTRAÇÃO DE MACRÓFAGOS E MUDANÇA DE M1 PARA M2 EM CAMUNDONGOS OBESOS**, registrada com o nº **4773-1/2018**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Leandro Pereira de Moura e Rodrigo Martins Pereira**, que envolve a produção, manutenção 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 Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, 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)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em **13 de março de 2018**.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	23/02/2018-23/02/2021
Vigência da autorização para manipulação animal:	13/03/2018-23/02/2021
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo heterogênico / Unib:SW (Swiss)
No. de animais:	448
Idade/Peso:	04 semanas / 40g
Sexo:	machos
Origem:	CEMIB/UNICAMP
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério da Faculdade de Ciências Aplicadas, FCA/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBio** e é **restrita** a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, 13 de março de 2018.


 Prof. Dr. Wagner José Fávaro
 Coordenador


 Fátima Alonso
 Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Cadastro de Protocolo de Pesquisa para uso de animais em pesquisa

- Após 01/08/2017 não será mais feito protocolamento inicial de formulários na versão impressa.

Os protocolos que forem recebidos no banco de dados da CEUA/UNICAMP serão automaticamente numerados e analisados e somente após aprovação final pela CEUA/UNICAMP deverão ser entregues na versão impressa e assinada pelo docente responsável e pelo executor.

Importante: antes do preenchimento do formulário leia atentamente as recomendações da CEUA/UNICAMP disponíveis em http://www.ib.unicamp.br/comissoes/ceua_formularios

Nº protocolo principal	4773-1/2018
Dados do remetente	
Nome	Rodrigo Martins Pereira
E-mail	rodrigo_mpereira@hotmail.com
1 Prazo	
	Início 14/11/2019 Término 23/02/2021
2 Título do projeto	
Título do projeto	EFEITOS DO EXERCÍCIO NA INFILTRAÇÃO DE MACRÓFAGOS E MUDANÇA DE M1 PARA M2 EM CAMUNDONGOS OBESOS
Área de conhecimento	Educação Física
3 RESPONSÁVEL	
Matricula	310461
Nome completo	Leandro Pereira de Moura
Instituição	Universidade Estadual de Campinas
Unidade	FCA - Faculdade de Ciências Aplicadas
Departamento / Disciplina	Saúde
Experiência prévia	Sim Quanto tempo? 9 anos, desde 2007
Treinamento	Sim Quanto tempo? Possui treinamento com o manejo com animais nessa área desde sua graduação onde aprendeu as técnicas necessárias para estudos com animais. Durante toda a trajetória acadêmica realizou treinamento que envolveu o uso de animais experimentais
Vínculo com a instituição	Docente / Pesquisador
Telefone	19 37216706
Localização	Rua Pedro Zaccaria, 1300, Jardim Santa Luiza Limeira
E-mail	leandropereiraam@hotmail.com
3.1 Executores	
Nome completo	Rodrigo Martins Pereira
Instituição	Universidade Estadual de Campinas
Nível acadêmico	Iniciação Científica
Experiência prévia (anos)	2 anos, desde 2015
Treinamento (especificar)	Não se aplica
Telefone	19 997145794
E-mail	rodrigo_mpereira@hotmail.com

Nome completo	Diego Gomes de Melo
Instituição	Universidade Estadual de Campinas
Nível acadêmico	Graduação
Experiência prévia (anos)	2 anos, desde 2017
Treinamento (especificar)	Não se aplica
Telefone	19 9 8811-0369
E-mail	diego.fca.unicamp@gmail.com
4 Colaboradores	