

Michelle Sartori

Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações do diabetes tipo 2 em camundongos fêmeas ob/ob: papel preventivo do treinamento físico dinâmico aeróbio, resistido ou combinado.

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina Da
Universidade de São Paulo para Obtenção do título de
Doutor em Ciências**

Programa de Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen

Co-orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis

São Paulo

2015

Michelle Sartori

Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações do diabetes tipo 2 em camundongos fêmeas ob/ob: papel preventivo do treinamento físico dinâmico aeróbio, resistido ou combinado.

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina Da
Universidade de São Paulo para Obtenção do título de
Doutor em Ciências**

Programa de Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen

Co-orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis

São Paulo

2015

Depois de algum tempo você aprende a construir todas as suas estradas no hoje, porque o terreno do amanhã é incerto demais para os planos, e o futuro tem o costume de cair meio em vão. Aprende que o tempo não é algo que se possa voltar para trás, portanto, plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. Aprende que paciência requer muita prática. Aprende que o que realmente importa não é o que você tem na vida, mas quem você tem na vida. E você aprende que pode suportar que realmente é forte, e que pode ir mais longe, depois de pensar que não pode mais.

(William Shakespeare)

DEDICATÓRIA

Sem dúvida, a conclusão desse trabalho é para mim uma grande satisfação e vitória. Porém, não conseguiria e nem poderia realizar esse grande sonho sem a ajuda de algumas pessoas que foram fundamentais nessa caminhada. Por isso, dedico esta tese a minha mãe, Elisabeth, por todo seu carinho e dedicação em minha educação. Por ter me dado forças para chegar aonde cheguei, por não me deixar saber o que a palavra desistir significa, mas também por traduzir muito bem a palavra lutar. E graças a você mamãe consegui lutar e alcançar mais esse sonho.

Também quero dedicar essa dissertação a minha avó Maria Luiza e ao meu tio Wilson, pois foram o braço direito de minha mãe e meu, e se hoje cheguei até aqui, foi graças ao carinho e educação que recebi dessas pessoas.

Também gostaria de dedicar essa dissertação a minha eterna orientadora Profa. Dra. Kátia De Angelis. Sinto-me muito feliz por ter tido o privilégio de ser orientada por essa pessoa maravilhosa. Gostaria de agradecer por ter me aceitado na IC e mestrado e ter aberto as portas para meu doutorado. Agradeço também a sua excelente orientação, por sempre estar presente e transmitir confiança nas horas decisivas, por ter acreditado em meu trabalho e por não ter se preocupado apenas com minha formação acadêmica, mas por ter me ajudado a ser uma pessoa melhor.

Dedico essa tese também a minha amada afilhada Lara, que deu outro sentido a minha vida, inspiração nos momentos difíceis e mais alegria aos meus dias.

A presença e carinho dessas pessoas foram fundamentais em minha vida. Nessas poucas palavras não consigo expressar meu amor, carinho e agradecimento que tenho por elas. Sem dúvida nenhuma, tenho muitos outros motivos para agradecer a essas pessoas, mas são tantas coisas que não caberiam, e que palavra nenhuma seria capaz de traduzir meus sentimentos por vocês. Muito OBRIGADA por tudo!

AGRADECIMENTOS

O caminho até aqui foi longo, e nem sempre a caminhada foi fácil. Mas nessas horas mais difíceis, diversas pessoas me estenderam a mão para me ajudar ou simplesmente, disseram palavras para me apoiar e me dizer “vá em frente, dará tudo certo”. Por isso, esse trabalho também é um pouco de cada uma dessas pessoas, e eu não poderia deixar de agradecê-las.

Agradeço a minha mãe, por todo apoio e dedicação, pela educação e por todos os ensinamentos transmitidos a mim, mamãe, fundamental em minha vida.

Agradeço a minha vovó Maria e a meu tio Wilson, por sempre estarem dispostos a me ajudar, por ajudarem em minha educação e por sempre me apoiarem em minhas decisões.

A minha Orientadora Maria Cláudia Irigoyen, que com muito carinho me aceitou em seu laboratório e sempre com muita sabedoria me mostrou novos caminhos.

A minha Co orientadora, Profa. Dra. Kátia De Angelis, a quem tenho muito a agradecer por toda ajuda e dedicação. Graças as suas aulas na graduação que eu me apaixonei pela fisiologia.

A querida Evelisy Fernanda Moura Peres, que em tão pouco tempo já me ensinou muito. Pelo apoio e por me ajudar a crescer. Obrigada por ser tão “giro” e fazer tanta coisa boa acontecer.

Gostaria de agradecer em especial o Fernando Santos, que sempre esteve disposto a me ajudar, por toda sua dedicação e amizade, pela sua companhia, por ter sido muito mais que um companheiro de laboratório, a Danielle da Silva Dias, que não poupou esforços para me ajudar na finalização desse trabalho e a Janaína Barcellos Ferreira, por toda sua ajuda, seus conselhos e sua amizade.

A todos os colegas do Laboratório de Hipertensão Experimental: Kátia Scapini, Paula Cruz, Oscar Albuquerque, Jacqueline Machi, Leandro Eziquiel, Maikon Barbosa, Alexandre Tavorari,

Daniela Farah, Ademir Nascimento, Naomi Vidal, Pamella Ramona, Christiane Malfitano, Ivana Moraes Silva, Edson Moreira.

A todos os amigos do Laboratório de Fisiologia Translacional: Nathalia Bernardes, Iris Sanches, Janaína Brito, Filipe Fernandes Conti.

Agradeço também a Dra. Dulce Casarini, Lys Angela Mendes e Zaira Palomino.

Agradeço ao apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), apoio fundamental para realização desse projeto.

Obrigada a todos os professores e funcionários da Universidade de São Paulo, que de forma direta ou não, também colaboraram para realização desse trabalho.

Agradeço a todos os obstáculos e dificuldades que encontrei, pois me encorajaram a ir mais adiante e fizeram da vitória algo mais especial. Também agradeço a todas as críticas, pois me fizeram amadurecer e ser uma pessoa melhor.

E principalmente, agradeço a Deus por ter me dado saúde e forças para chegar até aqui e por ter colocado todas essas pessoas em meu caminho.

Obrigada a todos pelo carinho e apoio durante esses anos. Vocês foram fundamentais na realização desse sonho.

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1. DIABETES MELLITUS TIPO 2 E OBESIDADE.....	1
1.2. DOENÇA CARDIOVASCULAR E DISFUNÇÃO AUTONÔMICA.....	4
1.3.MECANISMOS ASSOCIADOS ÀS COMPLICAÇÕES NO DIABETES.....	10
1.4. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS DISFUNÇÕES ASSOCIADAS AO DIABETES.....	18
2. OBJETIVOS.....	26
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1. AMOSTRA.....	29
4. PROCEDIMENTOS.....	31
4.1. Teste de Esforço Máximo Aeróbio.....	31
4.2. Treinamento Físico Aeróbio.....	31
4.3. Determinação da carga máxima para o treinamento resistido.....	31
4.4. Treinamento resistido.....	32

4.5. Treinamento Físico Combinado.....	32
4.6. Glicemia, Triglicérides e Colesterol Sanguíneo.....	32
4.7. Teste de Tolerância a Glicose.....	33
4.8. Pletismografia de Cauda.....	33
4.9. Canulação.....	33
4.10. Registro de Pressão Arterial e Avaliação da Sensibilidade dos Pressorreceptores	35
4.11. Avaliação da Modulação Autonômica Cardiovascular.....	35
4.12. Eutanásia dos Animais.....	36
4.13. Identificação da Fase do Ciclo Estral.....	36
4.14. Dosagem de catecolaminas.....	37
4.15. Determinação das Angiotensinas.....	37
4.16. Marcadores Inflamatórios.....	38
4.17. Estresse oxidativo e enzimas antioxidantes.....	38
4.17.1. Preparação dos Tecidos.....	38
4.17.2. Dosagem de Proteínas.....	39
4.17.3. Dosagem de Proteínas Oxidadas (Dano a proteínas, carbonilas).....	39
4.17.4. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	39
4.17.5. Catalase (CAT).....	40
4.17.6. Superóxido Dismutase (SOD).....	40
4.17.7. Glutathione Peroxidase (GPx).....	41
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
6. RESULTADOS.....	42

ESTUDO 1	42
6.1. Peso Corporal.....	42
6.2. Peso dos Tecidos.....	43
6.3. Teste de Esforço em Esteira.....	46
6.4. Teste de Carga Máxima em Escada.....	47
6.5. Glicemia.....	48
6.6. Triglicérides Sanguíneos.....	49
6.7. Colesterol Total Sanguíneo.....	50
6.8. Teste de Tolerância à Glicose (GTT).....	51
6.9. Avaliações Hemodinâmicas.....	52
6.9.1. Pletismografia de Cauda.....	52
6.9.2. Registro Direto de Pressão Arterial.....	54
6.10. Sensibilidade barorreflexa.....	54
6.11. Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	55
6.12. Variabilidade da Pressão Arterial.....	59
6.13. Catecolaminas em Tecido Adiposo.....	60
6.14. Angiotensinas.....	61
6.14.1. Tecido Adiposo.....	61
6.14.2. Rim.....	61
6.14.3. Ventrículo Esquerdo.....	63
6.15. Adiponectina e Marcadores Inflamatórios.....	65
6.15.1. Tecido adiposo abdominal.....	65
6.15.2. Baço.....	68

6.16. Estresse Oxidativo.....	71
6.16.1 Rim.....	71
6.16.2. Ventrículo Esquerdo.....	74
ESTUDO 2.....	76
6.17. Peso Corporal.....	76
6.18. Peso dos Tecidos.....	77
6.19. Glicemia.....	78
6.20. Teste de Tolerância a Glicose (GTT).....	79
6.21. Avaliações Hemodinâmicas: Registro Direto de Pressão Arterial.....	80
6.22. Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	81
6.23. Variabilidade da Pressão Arterial.....	82
6.24. Sensibilidade Barorreflexa Espontânea- Índice Alfa.....	84
6.25. Catecolaminas.....	85
6.26. Angiotensinas.....	86
6.26.1. Tecido Adiposo.....	86
6.26.2. Rim.....	87
6.26.3. Ventrículo Esquerdo.....	88
6.27. Estresse Oxidativo.....	88
6.27.1 Rim.....	88
6.27.2 Ventrículo Esquerdo.....	91
ESTUDO 3.....	93
6.28. Peso Corporal.....	93
6.29. Peso dos Tecidos.....	
	95

6.30. Teste de Esforço em Esteira.....	99
6.31. Teste de Carga Máxima em Escada.....	100
6.32. Glicemia.....	102
6.33. Triglicérides Sanguíneos.....	104
6.34. Colesterol Total Sanguíneo.....	105
6.35. Teste de Tolerância à Glicose (GTT).....	105
6.36. Avaliações Hemodinâmicas.....	106
6.36.1. Pletismografia de Cauda.....	106
6.36.2. Registro Direto de Pressão Arterial.....	107
6.37. Sensibilidade Barorreflexa.....	108
6.38. Variabilidade da Frequência Cardíaca.....	109
6.39. Variabilidade da Pressão Arterial.....	112
6.40. Catecolaminas.....	113
6.41 Angiotensinas.....	117
6.41.1. Tecido Adiposo.....	117
6.41.2. Rim.....	120
6.41.3. Ventrículo Esquerdo.....	123
6.42. Adiponectina e Marcadores Inflamatórios.....	126
6.42.1. Tecido adiposo abdominal.....	126
6.42.2. Baço.....	128
6.43. Estresse Oxidativo.....	132
6.43.1 Rim.....	
	132

6.43.2. Ventrículo Esquerdo.....	135
7. DISCUSSÃO.....	139
ESTUDO 1.....	139
ESTUDO 2	150
ESTUDO 3	156
8. SUMÁRIO E CONCLUSÕES.....	170
9. REFERÊNCIAS	172

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotos ilustrativas da canulação da artéria carótida e veia jugular no camundongo	34
Figura 2: Tipos de células encontradas em cada ciclo estral.....	37
Figura 3: Acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	42
Figura 4: Peso corporal no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo do grupo selvagens sedentárias e do grupo ob/ob sedentárias.....	43
Figura 5: Tecido adiposo abdominal dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	44
Figura 6. Peso do músculo sóleo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	45
Figura 7. Peso do músculo plantar dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	46
Figura 8. Tempo máximo de corrida no teste de esforço máximo em esteira no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	47
Figura 9. Peso máximo alcançado no teste de carga máxima em escada normalizado pelo peso corporal no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	48
Figura 10. Glicemia no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	49
Figura 11. Triglicérides sanguíneos ao final do protocolo (8º semana) dos grupos	50

selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	
Figura 12. Colesterol sanguíneo ao final do protocolo (8 ^o semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	51
Figura 13. Teste de tolerância à glicose (área sobre a curva) ao final do protocolo (8 ^o semana) dos grupos selvagens sedentárias e ob/ob sedentárias.....	52
Figura 14. Figura 14. Sensibilidade barorreflexa dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	55
Figura 15. RMSSD ao final do protocolo (8 ^o semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	57
Figura 16. Variância do intervalo de pulso ao final do protocolo (8 ^o semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	58
Figura 17. Balanço simpato/vagal ao final do protocolo (8 ^o semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	59
Figura 18. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	62
Figura 19. Angiotensina 2 no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	63
Figura 20. Angiotensina 1-7 no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	64
Figura 21. 2 no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	65
Figura 22. Adiponectina no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	66

Figura 23. PAI - 1 no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	67
Figura 24. Adiponectina no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	68
Figura 25. TNF alfa no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	69
Figura 26. IL-6 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	70
Figura 27. PAI-1 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	71
Figura 28. Proteínas carboniladas no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	72
Figura 29. TBARS no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	73
Figura 30. Catalase no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	73
Figura 31. GPx no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	74
Figura 32. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	75
Figura 33. Peso corporal dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	76
Figura 34. Glicemia dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas	79

(OS-12).....	
Figura 35. Teste de tolerância a glicose (GTT) nos grupos ob/ob sedentárias 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	80
Figura 36. Variância da pressão arterial sistólica dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	83
Figura 37. Banda de baixa frequência da pressão arterial dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	84
Figura 38. Dopamina no tecido adiposo dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	86
Figura 39. Proteínas carboniladas no rim dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	90
Figura 40. TBARS no rim dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	90
Figura 41. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	92
Figura 42. Acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	93
Figura 43. Peso corporal no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentários (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (AO), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	94
Figura 44. Ganho de peso corporal durante o protocolo dos grupos ob/ob sedentárias	95

(OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....

Figura 45. Peso do tecido adiposo abdominal dos grupos ob/ob sedentárias ob/ob treinamento aeróbio, ob/ob treinamento resistido e ob/ob treinamento combinado. 97

Figura 46. Peso do músculo sóleo dos grupos ob/ob sedentárias ob/ob treinamento aeróbio, ob/ob treinamento resistido e ob/ob treinamento combinado..... 98

Figura 47. Peso do músculo plantar dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC)..... 99

Figura 48. Tempo máximo de corrida no teste de esforço máximo em esteira no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC)..... 100

Figura 49. Carga máxima normalizada pelo peso corporal alcançada no teste de carga máxima em escada no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC)..... 102

Figura 50. Glicemia no início (1º semana) e ao final (8º semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC)..... 103

Figura 51. Triglicérides sanguíneos ao final do protocolo (8º semana) dos grupos selvagens sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC)..... 104

Figura 52. Teste de tolerância à glicose (área sobre a curva) ao final do protocolo (8º semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	106
Figura 53. Sensibilidade barorreflexa ao final do protocolo (8º semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	109
Figura 54. Variância do intervalo de pulso ao final do protocolo (8º semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	111
Figura 55. Banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica ao final do protocolo (8º semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	113
Figura 56. Noroadrenalina no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	115
Figura 57. L-Dopa no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	116
Figura 58. Dopamina no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	117

Figura 59. Angiotensina 1-7 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	119
Figura 60. Angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	120
Figura 61. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	122
Figura 62. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	123
Figura 63. Angiotensina 1-7 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	125
Figura 64. Angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	126
Figura 65. PAI - 1 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	128
Figura 66. Adiponectina no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento	130

combinado (OC).....	
Figura 67. IL-6 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	131
Figura 68. PAI-1 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	132
Figura 69. Proteínas carboniladas no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	134
Figura 70. TBARS no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	135
Figura 71. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	137
Figura 72. TBARS no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso dos tecidos dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	44
Tabela 2. Pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) obtidas de forma indireta na 1º, 4º e 8º semanas de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	53
Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta na 8º semana de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	54
Tabela 4. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	56
Tabela 5. Variabilidade da pressão arterial dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	60
Tabela 6. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	60
Tabela 7. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo nos grupos (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	61
Tabela 8. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim nos grupos (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	62
Tabela 9. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo nos grupos (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	64
Tabela 10. IL-6 e PAI-1 no tecido adiposo abdominal dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	67

Tabela 11. TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	69
Tabela 12. Parâmetro de estresse oxidativo no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	72
Tabela 13. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).....	75
Tabela 14. Peso absoluto dos tecidos dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	77
Tabela 15. Peso dos tecidos normalizado pelo peso corporal dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	78
Tabela 16. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob 12 semanas (OS-12).....	81
Tabela 17. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos ob/ob com 4 semanas (OS-4,) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	81
Tabela 18. Variabilidade da pressão arterial dos grupos dos grupos ob/ob com 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).....	82
Tabela 19. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	85
Tabela 20. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	87
Tabela 21 Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	87

Tabela 22. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	88
Tabela 23. Parâmetros de estresse oxidativo no rim dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	89
Tabela 24. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12).....	91
Tabela 25. Peso dos tecidos dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	96
Tabela 26. Pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) obtidas de forma indireta na 1º, 4º e 8º semanas de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	107
Tabela 27. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta na 8º semana de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	108
Tabela 28. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	110
Tabela 29. Variabilidade da pressão arterial dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	112

Tabela 30. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	114
Tabela 31. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	118
Tabela 32. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	121
Tabela 33. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	124
Tabela 34. Adiponectina, TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no tecido adiposo abdominal dos grupos, ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	127
Tabela 35. Adiponectina, TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	129
Tabela 36. Parâmetros de estresse oxidativo no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....	133
Tabela 37. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido	137

(OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).....

Sartori M. J. *Mecanismos associados ao desenvolvimento das complicações do diabetes tipo 2 em camundongos fêmeas ob/ob: papel preventivo do treinamento físico dinâmico aeróbio, resistido ou combinado*. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o papel do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado (aeróbio+resistido) no desenvolvimento do diabetes tipo 2 analisando mecanismos associados às complicações no diabetes em camundongos fêmeas com deficiência na produção leptina (ob/ob). Para tanto, foram utilizadas camundongos fêmeas, inicialmente com 4 semanas de idade, divididas em 6 grupos: ob/ob sedentárias com 4 semanas de vida (OS-4), selvagens sedentárias (SS) ou ob/ob sedentárias (OS-12) acompanhadas até a 12ª semana de vida, ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). Os grupos treinados foram submetidos a 8 semanas de treinamento físico dinâmico aeróbio em esteira (50 a 60% da velocidade máxima do teste de esforço) ou resistido em escada (40-60% da carga máxima) ou a associação dos dois treinos (combinado). Foram avaliados: peso corporal; glicose, triglicérides e colesterol total sanguíneos; pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC); sensibilidade barorreflexa (SBR); modulação autonômica cardiovascular; marcadores inflamatórios e hormonais; e parâmetros de estresse oxidativo. Os animais obesos (OS-12) apresentaram aumento de peso corporal, tecido adiposo, de glicemia, de triglicérides e de intolerância à glicose quando comparado aos animais selvagens (SS). Adicionalmente, o grupo OS-12 apresentou piores resultados nos testes aeróbio e de força. Não observamos diferenças entre os grupos SS e OS-12 em relação a PA e FC, porém o grupo OS-12 apresentou diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) ($33\pm 4\text{ms}^2$) e da sensibilidade barorreflexa em relação ao grupo SS (VFC: $178\pm 19\text{ms}^2$). O grupo OS-12 apresentou aumento de angiotensina 2 nos tecidos renal e cardíaco, diminuição da adiponectina e aumento de citocinas inflamatórias no tecido adiposo e no baço em relação ao grupo SS. Somado a isso, os animais obesos apresentam maior dano a proteínas e lipoperoxidação e diminuição das enzimas antioxidantes em tecido renal e cardíaco em relação ao grupo SS. A comparação entre os grupos OS-4 e OS-12 evidenciou aumento de peso corporal, tecido adiposo, glicemia, intolerância à glicose e de parâmetros de estresse oxidativo no grupo OS-12 em relação ao grupo OS-4. A redução na VFC e na SBR foi observada no grupo OS-4 e no grupo OS-12. O treinamento físico por sua vez, diminuiu o ganho de peso e reduziu a glicemia e a intolerância à glicose nos três grupos treinados em comparação ao grupo OS-12. O treinamento físico aeróbio ($61\pm 8\text{ms}^2$ e $6\pm 4\text{mmHg}^2$) e resistido ($66\pm 16\text{ms}^2$ e $6\pm 1,4\text{mmHg}^2$) foram eficientes em aumentar a VFC e diminuir a banda de baixa frequência da PA (simpático vascular) em relação ao grupo OS-12, porém o grupo OC ($43\pm 7\text{ms}^2$ e $8\pm 0,9\text{mmHg}^2$) foi semelhante ao grupo OS-12 ($10\pm 1,1\text{mmHg}^2$) e aos grupos OA e OR. Além disso, as três modalidades melhoraram a SBR. Os três tipos de treinamento reduziram os níveis de angiotensina 2 e aumentaram os níveis de angiotensina 1-7 em tecido adiposo, rim e coração. O treinamento físico aeróbio foi mais eficiente em melhorar o perfil inflamatório em tecido adiposo e no baço, uma vez que os grupos OA e OC apresentaram aumento de adiponectina e apenas o grupo OC apresentou diminuição de IL-6 e PAI-1 em relação ao grupo OS-12. Em relação ao estresse oxidativo, os três grupos treinados apresentaram diminuição de marcadores de lesão. Concluindo, nossos achados confirmam o desenvolvimento de disfunção metabólica ao longo da vida de camundongos ob/ob. É interessante notar que com 4 semanas de vida camundongos ob/ob apresentaram uma expressiva redução dos parâmetros da VFC. Este desbalanço autonômico, poderiam estar ocorrendo não só no coração, mas para outros tecidos, como o baço e o tecido adiposo, favorecendo a liberação de citocinas inflamatórias que poderiam induzir a longo prazo lesão de órgão alvo, como observado no presente estudo em coração e rins, por aumento de estresse oxidativo. Os grupos treinados, independente da modalidade, apresentaram melhora metabólica e na regulação autonômica cardiovascular, a qual foi acompanhada de alterações favoráveis no sistema renina-angiotensina, em mediadores inflamatórios e no perfil de estresse oxidativo. Neste sentido, acreditamos que a atenuação da disfunção autonômica (precocemente observada neste modelo de DM) pelo treinamento físico, independente do tipo, possa induzir alterações favoráveis (e dependentes do tipo de treino) no sistema renina angiotensina e em mediadores inflamatórios, reduzindo o estresse oxidativo em tecidos importantes para a regulação cardiovascular.

PALAVRAS CHAVE: Diabetes tipo 2, disfunção autonômica, treinamento físico.

Sartori M. J. *Mechanisms associated with the development of complications of type 2 diabetes in ob/ob female mice: preventive role of dynamic aerobic resistance or combined exercise training.* [Thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015

The aim of this study was to evaluate the role of aerobic, resistance or combined (aerobic + resistance) exercise training in the development of type 2 diabetes, analyzing mechanisms associated with diabetes complications in female mice with deficiency in leptin production (ob/ob). Female mice, initially with 4 weeks of age, were divided into 6 groups: ob/ob sedentary with 4 weeks of life (OS-4), sedentary wild type (SS) or ob/ob sedentary (OS-12) followed until 12 week life, ob/ob+aerobic training (OA), ob/ob+resistance training (OR) and ob/ob+combined training (OC). The trained groups were submitted to eight weeks of dynamic aerobic exercise training on a treadmill (50-60% of maximum stress test speed) or resistance exercise on a ladder (40-60% of the maximum load) or an association of these two trainings (combined). Body weight; glucose, triglycerides, and total blood cholesterol; blood pressure (BP) and heart rate (HR); baroreflex sensitivity (BRS); cardiovascular autonomic modulation; inflammatory and hormonal markers; and oxidative stress parameters were evaluated. Obese animals (OS-12) showed increased body and fat weight, blood glucose, triglyceride and glucose intolerance when compared to wild type animals (SS). Additionally, OS-12 group showed decreased capacity in aerobic and strength exercise tests. We did not observe differences between the SS and the OS-12 groups regarding BP and HR, however the OS-12 group showed reduced heart rate variability (HRV) ($33\pm 4\text{ms}^2$) and baroreflex sensitivity when compared to the SS group ($178\pm 19\text{ms}^2$). The OS-12 group showed increased angiotensin 2 in kidney and heart tissues, decreased adiponectin and increased inflammatory cytokines in adipose tissue and in the spleen in relation to the SS group. Moreover, obese animals presented increased protein oxidation and lipid peroxidation and decreased antioxidant enzymes in kidney and heart tissues when compared to SS group. The comparison between the OS-4 and the OS-12 groups showed increased body and fat weight, blood glucose, glucose intolerance and oxidative stress in OS-12 compared to OS-4 group. The decrease in HRV and in BRS were observed in OS-4 and OS-12 groups. On the other hand, exercise training decreased weight gain and reduced blood glucose and glucose intolerance in all three trained groups compared to OS-12 group. Aerobic ($61\pm 8\text{ms}^2$ and $6\pm 4\text{mmHg}^2$) and resistance exercise training ($66\pm 16\text{ms}^2$ and $6\pm 1.4\text{mmHg}^2$) were efficient in increasing the HRV and decrease the low frequency band of BP (vascular sympathetic modulation) as compared to OS-12 group; however OC group ($43\pm 7\text{ms}^2$ and $8\pm 0.9\text{mmHg}^2$) was similar to OS-12 group ($10\pm 1.1\text{mmHg}^2$) and to OA and OR groups. In addition, the three types of exercise training improved BRS. The three types of training reduced levels of angiotensin 2 and increased levels of angiotensin 1-7 in adipose tissue, kidney and heart. The aerobic exercise was more efficient in improving inflammatory profile in adipose tissue and spleen, since OA and OC groups showed an increase in adiponectin and only the OC group showed a decrease in IL-6 and PAI-1 in relation to the group OS-12. Regarding oxidative stress, the three trained groups showed a decrease in damage markers. In conclusion, our findings support the development of metabolic dysfunction during lifespan in ob/ob mice. Interestingly, 4 weeks old ob/ob mice showed a significant reduction in HRV parameters. This autonomic imbalance could be occurring not only in the heart, but in other tissues, such as the spleen and the adipose tissue, promoting the release of inflammatory cytokines. These cytokines could induce long-term target organ damage, as observed in this study in heart and kidney by increased oxidative stress. The trained groups, regardless of the type of training, showed improved metabolic and cardiovascular autonomic regulation, which were accompanied by favorable changes in the renin-angiotensin system, inflammatory mediators and oxidative stress profile. In this sense, we believe that the attenuation of autonomic dysfunction (early observed in this model of DM) by exercise training, regardless of the type of training, can induce positive changes (dependent on the type of exercise training) on the renin angiotensin system and inflammatory mediators, reducing oxidative stress in important tissues for cardiovascular regulation.

KEY WORDS: Type 2 diabetes, autonomic dysfunction, exercise training.

1.INTRODUÇÃO

1.1. DIABETES MELLITUS TIPO 2 E OBESIDADE

Define-se diabetes mellitus (DM) como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta e/ou incapacidade da insulina exercer seus efeitos, caracterizando-se por hiperglicemia crônica (DIABETES, 1999). De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2005), só nos países do continente americano a prevalência da população diabética poderá chegar a 64 milhões até o ano de 2025, enquanto que no Brasil estes números chegarão em torno de 11,6 milhões até a mesma data.

O DM pode ser dividido em dois tipos: tipo 1 e tipo 2, com causas diferentes e consequências semelhantes. O DM tipo 1 é consequência da ausência de insulina, resultando de um processo autoimune que destrói as células que produzem insulina (célula β -pancreática). O DM tipo 2, é a forma mais comum, correspondendo a 90% dos casos (WITZEL, 1995), envolvendo uma predisposição genética, sendo favorecido pelo excesso de peso e pelo sedentarismo e normalmente está associado à deficiência na ação da insulina (LEFEBVRE, 2005). No DM tipo 2 pode ocorrer uma diminuição da secreção de insulina, ou um aumento na resistência à ação da insulina - ou ainda a associação dos dois. O DM tipo 2 é diagnosticado mais frequentemente em pessoas com mais de 40 anos e cerca de 80% dos afetados são obesos. A resistência à ação da insulina observada no DM tipo 2 pode ser atribuída a mutações no gene da insulina produzindo uma insulina não ativa, no receptor da insulina, ou nas diversas proteínas envolvidas na sinalização, no transporte e no metabolismo de glicose (ex. GLUT 1 - GLUT 5, Hexoquinase II, glicogênio sintase, etc) (IVY, 1997; GOODYEAR & KAHN, 1998).

É importante destacar que obesidade e DM tipo 2 se relacionam fortemente. Geralmente a obesidade induz resistência à insulina e, conseqüentemente, DM tipo 2. Por outro lado, o hiperinsulinismo existente no DM tipo 2 decorrente da resistência à ação da insulina, leva à alteração do metabolismo, ocorrendo o anabolismo, ou seja, acúmulo de energia e de gordura, podendo causar obesidade (WITZEL, 1995). Além disso, no estágio inicial do DM tipo 2, a resistência à insulina normalmente leva ao hiperinsulinismo compensatório. Este excesso de insulina leva a lipogênese, que altera o perfil lipídico, causando hipertrigliceridemia (dislipidemia) que aumenta a produção de partículas aterogênicas, podendo criar um estado pró coagulante que pode se associar a obstruções arteriais causando ainda outras doenças como trombose e hipertensão arterial (WITZEL, 1995). Além disso, a obesidade pode levar à resistência à insulina através da *down regulation* de receptores para insulina, produção e liberação aumentada de ácidos graxos livres, aumento no nível de citocinas pro-inflamatórias, leptina e a produção do hormônio resistina pelos adipócitos (APOVIAN *et al.*, 2008).

Vale ressaltar que assim como o DM tipo 2, a obesidade é consequência de fatores genéticos associados aos hábitos de vida, incluindo a alimentação e a atividade física (COLEMAN, 1978; STUNKARD *et al.*, 1990). Adicionalmente, observa-se que em sujeitos obesos há um aumento nos níveis de leptina, sugerindo que na obesidade ocorra uma resistência à ação da leptina, da mesma forma que se observa a resistência à insulina em pacientes com DM (FRIEDMAN & HALAAS, 1998).

Um modelo de DM tipo 2 que vem sendo bastante estudado, é o camundongo obeso ob/ob, pois sua síndrome de obesidade mórbida e DM tipo 2 são semelhantes aos observados em humanos (COLEMAN, 1978). Esse modelo possui uma mutação no gene ob, resultando em deficiência na leptina (ZHANG *et al.*, 1994). O gene ob/ob foi descoberto em 1994 por Zhang *et al.*, e caracterizou-

se a leptina como produto desse gene. A leptina, um hormônio que é produzido e sintetizado principalmente pelo tecido adiposo branco (os níveis de leptina são correlacionados com a massa do tecido adiposo), tem sido alvo de vários estudos principalmente no que diz respeito à obesidade (MAFFEI *et al.*, 1995; TRAYHURN *et al.*, 1995). O aumento na leptina leva à oxidação de ácidos graxos e redução na massa do tecido adiposo enquanto a deficiência desse hormônio, como ocorre no camundongo ob/ob, leva ao aumento na deposição de gordura (COLEMAN, 1978; VERPLOEGEN *et al.*, 1997).

A leptina leva informações para o cérebro sobre a quantidade de energia armazenada em forma de gordura e também determina mudanças no comportamento alimentar e gasto energético (AHIMA *et al.*, 1996). Nesse sentido, a leptina age no hipotálamo, provavelmente através de duas vias: uma através do órgão subfornicial e outra através do núcleo arqueado que é provido de duas populações de neurônios: os orexígenos (que secretam o neuropeptídeo Y) e os anorexígenos (ELMQUIST *et al.*, 1999; SCHWARTZ *et al.*, 2000; SMITH *et al.*, 2009). Além disso, a leptina exerce efeito não apenas no sistema nervoso central, mas também tem efeito direto no tecido adiposo branco e marrom, ou seja, seu efeito na redução de peso não depende apenas de uma ação endócrina hipotalâmica, mas também de vias autócrinas e/ou parácrinas sobre os adipócitos (SIEGRIST-KAISER *et al.*, 1997).

Os camundongos ob/ob são considerados um bom modelo de DM tipo 2 por apresentarem hiperglicemia e resistência à insulina, além de manifestarem características de neuropatia diabética (HASTY *et al.*, 2001; DREL *et al.*, 2006; JI *et al.*, 2010). Os camundongos ob/ob são caracterizados pela obesidade acentuada (com significativo aumento do peso corporal na quinta semana de vida, chegando ao peso corporal máximo no sétimo mês de vida), hiperglicemia e concentração de insulina elevada (aproximadamente com 17 a 21 dias de vida) associados com um aumento em número e

tamanho das células β das ilhotas de Langerhans. Outros autores também tem relatado o aumento na resistência à insulina e diminuição da tolerância à glicose (COLEMAN, 1978; LORD & ATKINS, 1985). Somado a essas alterações, podemos observar neuropatia periférica (DREL *et al.*, 2006), autonômica e diminuição da sensibilidade barorreflexa nesse modelo (HILZENDEGER *et al.*, 2010).

1.2. DOENÇA CARDIOVASCULAR E DISFUNÇÃO AUTONÔMICA

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem uma das mais importantes causas de mortalidade em diversos países, sendo responsáveis por aproximadamente 50% dos óbitos entre homens e mulheres segundo a *AMERICAN HEART ASSOCIATION* (American Heart Association 71st scientific sessions. Dallas, Texas, USA. November 8-11, 1998. Abstracts, 1998). É importante destacar que complicações cardiocirculatórias representam a maior causa de morbidade e de mortalidade entre os pacientes diabéticos (SAMPSON *et al.*, 1990; DE ANGELIS *et al.*, 2002). Nesse sentido, junto com a clássica nefropatia e neuropatia diabética, há a existência de uma doença específica cardíaca, denominada cardiomiopatia diabética. O risco de incidência de DCV em um indivíduo diabético com um fator de risco equivale ao risco de um indivíduo não diabético possuidor de três fatores de risco (ABRAHAM, 2003). Porém, a maior parte dos nossos conhecimentos sobre as DCV vem de estudos realizados em indivíduos do gênero masculino. Nesse sentido, vale destacar que a partir dos anos 60, com a inserção das mulheres no mercado de trabalho e sua maior exposição ao estresse, fumo e maus hábitos alimentares, a taxa de mortalidade devido as DCV se elevou rapidamente no sexo feminino (MOSCA *et al.*, 2007). Portanto, é fundamental estabelecer estratégias bem definidas para o tratamento das DCV nas mulheres de tal forma que possamos melhorar a morbimortalidade entre elas. É importante destacar que estudos de Framingham demonstraram que a

hiperglicemia diabética dobra o risco de desenvolvimento de doenças cardiocirculatórias nos homens e triplica nas mulheres (MUIR *et al.*, 1992).

O DM é uma doença que provoca complicações microvasculares, macrovasculares e no sistema nervoso (LEFEBVRE, 2005; DE ANGELIS *et al.*, 2009). As anormalidades vasculares que levam à nefropatia e à retinopatia no diabetes são também identificadas na circulação sistêmica. Sendo assim, é plausível que o desenvolvimento de alterações funcionais precoces, que por sua vez conduzem à neuropatia diabética e à disfunção autonômica, seja em parte resultante de anormalidades neurovasculares (CAMERON & COTTER, 1994). De fato, o sistema nervoso periférico está frequentemente comprometido em pacientes diabéticos (PICKUP & WILLIAMS, 1994). A neuropatia diabética, uma complicação de grande prevalência, é acompanhada por uma gama de anormalidades e envolve tanto o sistema nervoso autônomo como o sistema nervoso somático, aumentando significativamente a morbidade e a mortalidade desses pacientes (HILSTED *et al.*, 1979; NATHAN *et al.*, 1996). A neuropatia autonômica diabética apresenta-se em 20 a 40% dos diabéticos (HILSTED *et al.*, 1979), variando de 16% em diabéticos recém-diagnosticados, a 70% naqueles de longa duração (LEVITT *et al.*, 1996).

A neuropatia autonômica diabética, que se manifesta entre outras formas pela diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), parece predispor o aparecimento de outras complicações do DM, sendo altamente correlacionada a elevadas taxas de morbidade e mortalidade nos diabéticos (RIBEIRO & MORAES FILHO, 2005). Alterações na função autonômica podem ser observadas precocemente em sujeitos com história familiar positiva de DM (FOSS *et al.*, 2001; SARTORI *et al.*, 2009). Dessa forma, é possível que a disautonomia possa ser o fator causal do desenvolvimento da hiperinsulinemia e da hiperglicemia (NONOGAKI, 2000). A variabilidade natural de parâmetros cardiovasculares como pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) reflete a interação de

diversos fatores que, em sua maioria, envolvem uma influência do sistema nervoso autônomo sobre o aparelho cardiovascular (JOAQUIM *et al.*, 2005). Segundo Ribeiro & Moraes (RIBEIRO & MORAES FILHO, 2005) com o conhecimento de que as flutuações da FC batimento a batimento refletem a interação do sistema nervoso simpático e parassimpático há uma nova possibilidade do estudo do sistema nervoso autônomo a partir do estudo da VFC, com aplicação clínica.

No diabetes, o comprometimento autonômico é uma complicação frequente que acomete ambos os ramos do sistema nervoso autônomo, e manifesta-se, entre outras formas pela diminuição da VFC, a qual está associada com aumento da mortalidade (RIBEIRO & MORAES FILHO, 2005). Assim, a diminuição da VFC é tida como um marcador para neuropatia autonômica. Alguns estudos têm demonstrado relação da diminuição da VFC com o diabetes, porém ainda não se sabe muito bem sobre essa relação (SCHROEDER *et al.*, 2005).

Vale lembrar que a manutenção da função cardíaca normal é obtida através da regulação neural cardíaca pela integração da atividade do sistema nervoso simpático e parassimpático. Além disso, o controle da homeostase cardiovascular é dependente da atuação dos reflexos originados pelos pressoreceptores arteriais, pelos receptores cardiopulmonares e por sua integração central (MANCIA *et al.*, 1994). Nas doenças cardiovasculares, as quais representam uma das mais importantes causas de morte no mundo (WHO, 2013), as alterações da atividade nervosa simpática são bem mais conhecidas e estudadas que as do parassimpático, constituindo as mais fortes evidências da disfunção autonômica (FRANCHINI & KRIEGER, 1989). Entretanto, existe um consenso de que a função vagal preservada é benéfica na manutenção da variabilidade da frequência cardíaca, com conseqüente proteção de lesão de órgão alvo (SU & MIAO, 2001). Além disto, estudos experimentais e clínicos vêm demonstrando que a disautonomia está presente em uma série de patologias, tais como, o DM, a hipertensão arterial, a insuficiência cardíaca, e outras alterações

metabólicas (DE ANGELIS *et al.*, 2004). Assim, intervenções no sentido de prevenir e/ou atenuar a disfunção autonômica cardiovascular têm sido vistas como novas estratégias na prevenção e manejo das doenças cardiovasculares (LA ROVERE *et al.*, 1992; Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996)

Embora a neuropatia autonômica seja uma complicação bem conhecida no diabetes, em seu estágio inicial a presença dessa disfunção pode não ser reconhecida. Mesmo o paciente diabético não apresentando sintomas que levem ao diagnóstico da neuropatia ele já pode apresentar anormalidades na condução motora periférica e na função autonômica. Testes que avaliem a função reflexa cardiovascular podem demonstrar sintomas e sinais de alguma anormalidade (GREGERSEN, 1967; EWING *et al.*, 1973; EWING *et al.*, 1974).

Estudos clínicos e experimentais demonstram que a neuropatia autonômica diabética caracteriza-se, inicialmente por disfunção do sistema nervoso parassimpático e, posteriormente, do sistema nervoso simpático (BARRON *et al.*, 1994; BOTTINI *et al.*, 1995; DE ANGELIS *et al.*, 2000; DE ANGELIS *et al.*, 2009), justificando o aumento da FC basal como uma das primeiras alterações identificáveis. Além disso, outras alterações como a diminuição da VFC bem como a atividade aumentada do sistema nervoso simpático que podem ser encontradas em indivíduos diabéticos podem ser importantes preditores de DCV. Particularmente, o aumento da atividade simpática é um grande contribuinte para as DCV, pois pode levar o indivíduo a desenvolver hipertensão e resistência à insulina (WAKABAYASHI & ASO, 2004). Apesar da ativação simpática ser considerada um dos principais fatores para as doenças cardiovasculares, e ser comumente vista em indivíduos portadores de diabetes, a neuropatia parassimpática tem sido observada em indivíduos com intolerância à glicose (FOSS *et al.*, 2001). Estas disfunções autonômicas podem levar à

diminuição da tolerância ao exercício (RAMIRES *et al.*, 1993; TANTUCCI *et al.*, 1996), à hipoglicemia assintomática (NIAKAN *et al.*, 1986), à diminuição da resposta adrenérgica à hipoglicemia (BOTTINI *et al.*, 1995), à taquicardia em repouso, à presença de hipotensão postural (NATHAN *et al.*, 1996), ao infarto silencioso do miocárdio e à morte súbita (HILSTED *et al.*, 1979; NIAKAN *et al.*, 1986). Além disso, a neuropatia autonômica diabética parece predispor ao aparecimento de outras complicações do DM, como a neuropatia somática periférica, a nefropatia e a retinopatia (SPALLONE *et al.*, 1997) sendo altamente correlacionada a elevadas taxas de morbidade e mortalidade nos diabéticos (LEVITT *et al.*, 1996).

Foss *et al.* (FOSS *et al.*, 2001) evidenciaram que a neuropatia autonômica em filhos de diabéticos não está necessariamente associada à hiperglicemia. Os autores sugerem que a neuropatia autonômica é parte de uma síndrome genética da doença que inclui aumento no risco de desenvolvimento de doença cardiovascular, DM tipo 2, hipertensão e até mesmo a morte prematura. Em outro estudo, foi verificada maior participação do sistema nervoso simpático em filhos de diabéticos independente de apresentarem resistência à insulina (FIORENTINI *et al.*, 2005). Esses estudos em conjunto sugerem que a disfunção autonômica precoce em filhos de diabéticos possa ser um fator independente nessa população. Portanto, é possível que a disfunção autonômica possa estar entre os fatores causais do desenvolvimento tanto da hiperinsulinemia quanto da hiperglicemia em adultos não diabéticos (TIPTON, 1991; SHIMAZU, 1996; NONOGAKI, 2000). De fato, têm se sugerido que a disfunção autonômica na regulação endócrina e cardiovascular possa ser a causa do surgimento do DM (CARNETHON *et al.*, 2003).

Há alguns anos nosso grupo tem se preocupado em estudar as complicações cardiovasculares e autonômicas causadas pelo diabetes, principalmente no DM induzido pela streptozotocina (STZ). A STZ destrói as células β pancreáticas resultando em uma síndrome diabética no animal, similar ao

DM tipo 1 visto em humanos (DE ANGELIS *et al.*, 2009). Em camundongos diabéticos por STZ, observamos hipertensão moderada sem nenhuma alteração na FC (WICHI *et al.*, 2007). Já em ratos diabéticos e ratas fêmeas submetidas à privação dos hormônios ovarianos, observou-se redução da PA, da FC de repouso (DE ANGELIS *et al.*, 2000; HARTHMANN *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007), da sensibilidade barorreflexa, (HARTHMANN *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007), do tônus vagal cardíaco e da VFC (DE ANGELIS *et al.*, 2000; SCHAAN *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007). Recentemente temos estudado modelos mais próximos ao DM tipo 2. Em um estudo de nosso grupo feito com camundongos db/db, observamos diminuição da FC, aumento da PA e da variabilidade da PA (SENADOR *et al.*, 2009). Em ratas fêmeas submetidas à sobrecarga de frutose verificamos resistência à insulina, aumento da PA e redução do tônus vagal (BRITO *et al.*, 2008; SANCHES *et al.*, 2012).

Dessa forma, fica claro que independente do modelo de escolha, observa-se que o prejuízo metabólico está acompanhado por disfunção autonômica cardiovascular. No entanto, pouco se sabe sobre o desenvolvimento deste processo de disfunção, bem como o papel de abordagens terapêuticas para prevenção do desenvolvimento do DM tipo 2.

1.3. MECANISMOS ASSOCIADOS ÀS COMPLICAÇÕES NO DIABETES

O estresse oxidativo (EO) pode ser definido como um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e uma diminuição das defesas antioxidantes, levando à inibição da produção de substâncias pró-oxidantes (NORDMANN, 1994; AL-GUBORY *et al.*, 2010; BURTON & JAUNIAUX, 2011). O EO ocorre na célula quando a produção de moléculas de radicais livres excedem a capacidade antioxidante do sistema. Nesse caso, as células anti-oxidantes não removem os radicais livres e esses radicais atacam e danificam proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Esse dano pode desencadear prejuízos na ação de célula como diminuição de sua atividade biológica, diminuição do metabolismo energético, e problemas na sinalização e no transporte celular (Vincent *et al.*, 2004).

O aumento do EO está fortemente ligado ao desenvolvimento e progressão do DM e suas complicações (BAYNES & THORPE, 1999; CERIELLO, 2000). As células β são particularmente sensíveis ao EO por causa de sua baixa capacidade de produzir enzimas antioxidantes como a catalase, a glutathione peroxidase (GPx) e a superóxido dismutase (SOD) (TIEDGE *et al.*, 1997). Um número crescente de evidências sugere que a produção aumentada de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido e o radical hidroxila, participam criticamente da patogênese das doenças coronarianas, hipertensão, aterosclerose e síndrome metabólica (DANTAS & CARVALHO, 2000; BELLO-KLEIN *et al.*, 2001). De fato, pacientes com hipertensão, hipercolesterolemia, DM, fumantes, e até mesmo indivíduos no processo fisiológico do envelhecimento, tem apresentado relação entre disfunções no endotélio vascular e aumento do EO (ORIE *et al.*, 1999; CAI & HARRISON, 2000; SCHULZ *et al.*, 2011).

Além disto, estudos demonstraram que a resistência à insulina e a hiperinsulinemia aumentam a peroxidação lipídica e diminuem os antioxidantes no plasma, sugerindo uma ligação entre DM e EO (XU & BADR, 1999; MIZUNO *et al.*, 2004). O aumento do EO foi ainda relacionado com a hiperinsulinemia e com reduzida concentração da catalase (CAT) em animais (XU & BADR, 1999). Essas e outras evidências têm levado muitos investigadores a sugerir que o aumento excessivo de espécies reativas de oxigênio pode ser considerado um mecanismo importante envolvido no desenvolvimento de resistência à insulina, DM e DCV.

De fato, podemos observar que pacientes diabéticos tipo 2 apresentam um aumento na lipoperoxidação de membranas, bem como diminuição da GSH plasmática e de enzimas antioxidante (ALTOMARE *et al.*, 1992). Camundongos ob/ob, além de apresentarem aumento na glicemia, apresentam aumento no TBARS (uma medida de lipoperoxidação), que foi correlacionado com a diminuição da sensibilidade a insulina (SAINZ *et al.*, 2010).

Em relação ao sexo feminino, vale destacar que a cardioproteção que a mulher apresenta em relação ao homem até o climatério, e que tem sido relacionada aos maiores níveis de estrogênio circulantes, pode ser mediada, ao menos em parte, pelo fato desse hormônio estar associado ao aumento da síntese de óxido nítrico (NO). De fato, o estrogênio tem sido relacionado com várias ações cardioprotetoras como, por exemplo, vasodilatação, inibição da agregação plaquetária antioxidativa e crescimento de células do músculo liso vascular (MONCADA *et al.*, 1991; DUBEY, 1994; DUBEY *et al.*, 1995). Além disso, estudos sugerem que o EO relacionado ao DM é maior no sexo feminino o que pode estar relacionado ao aumento da DCV na mulher. Porém, os mecanismos ligados ao impacto do gênero no EO e DM ainda são desconhecidos (MARRA *et al.*, 2002; HOELDTKE *et al.*, 2011).

Os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio se manifestam em diversos tecidos, incluindo o sistema nervoso (PAZDRO & BURGESS, 2010). O EO está associado à capacidade de se regenerar e à apoptose dos neurônios. Portanto, é plausível que esse possa ser um dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da neuropatia autonômica observada em diabéticos (RUSSELL *et al.*, 2002). A incapacidade em se regenerar está relacionada ao grau de neuropatia, sugerindo que as intervenções terapêuticas para melhorar a regeneração dessas fibras são mais eficazes nos estágios iniciais da doença (POLYDEFKIS *et al.*, 2003). Esse resultado reforça a importância da busca de ações que possam prevenir ou atenuar esses danos precocemente (ZENGI *et al.*, 2011).

Vale lembrar que o NO pode ser destruído pelo radical superóxido (GRYGLEWSKI *et al.*, 1986; RUBANYI, 1993) e pode ser protegido por mecanismos antioxidantes como a SOD, a CAT e a GPx e pelos sistemas não enzimáticos, que podem ser medidos pela determinação da capacidade antioxidante total (TRAP) (DORMANDY, 1978; SIES, 1986). Sugere-se ainda que a redução da biodisponibilidade de NO e/ou o aumento do ânion superóxido em situações de estresse exerça função em alterações dos pressorreceptores (LI *et al.*, 1996; SCHULTZ & USTINOVA, 1998; DE ANGELIS LOBO D'AVILA *et al.*, 1999; CHOWDHARY *et al.*, 2000).

Além disto, é possível que exista uma associação entre moléculas bioativas liberadas a partir de tecido adiposo e o estresse oxidativo, sendo que essa associação parece responsável, pelo menos em parte, ao desenvolvimento da resistência à insulina e disfunção endotelial. De fato, o sistema imunológico tem sido alvo de grande interesse nos últimos anos no desenvolvimento e prognóstico da doença arterial coronariana (JANSZKY *et al.*, 2004). Além disso, o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias tais como: proteína C reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6) (RIDKER *et al.*, 2000b) e fator de necrose tumoral (TNF alfa) (RIDKER *et al.*, 2000a) estão associadas ao maior

risco cardiovascular e ao aumento da morbidade e mortalidade entre a população em geral (PRADHAN *et al.*, 2002). Dessa forma, o EO, juntamente com o estado de hiperglicemia crônica, característico do diabetes, pode levar a outros problemas como a elevação na concentração de moléculas pró- inflamatórias (SALLAM *et al.*, 2010). De fato, em camundongos ob/ob, além do aumento no EO, também se observou aumento dos marcadores inflamatórios (SAINZ *et al.*, 2010). A própria ingestão de macronutrientes e de glicose aumenta o EO e a inflamação. O estado de hiperglicemia que ocorre no DM tipo 2 pode exacerbar esse estado inflamatório (DANDONA *et al.*, 2004). No DM tipo 2, o estado inflamatório reflete a ativação do sistema imunológico que, nesse caso, pode sofrer influência de fatores metabólicos, ambientais e genéticos (GARCIA *et al.*, 2010). Além disto, níveis séricos elevados de interleucina 18 foram observados em pacientes com síndrome metabólica, mostrando também que essa citocina estava associada com obesidade e resistência à insulina, independente da síndrome metabólica (HUNG *et al.*, 2005; FLOREZ *et al.*, 2006; YAMAGUCHI *et al.*, 2006). De fato, estudos sugerem que a inflamação decorrente do sistema imunológico é uma característica de doenças cardiometabólicas (KAHN *et al.*, 2005; NAKAGAWA *et al.*, 2005). Um estudo experimental de Glushakova e colaboradores (GLUSHAKOVA *et al.*, 2008) evidenciou alteração em marcadores inflamatórios nos rins de animais submetidos a uma dieta rica em frutose. Além disso, foi observado aumento da resistência à insulina acompanhado de aumento nos níveis de PCR, interleucinas 1 e 6, bem como desregulação de adipocitocinas e leptina em ratos alimentados com uma dieta rica em frutose (ARMUTCU *et al.*, 2005). Existem dados que indicam ainda que os níveis elevados de PCR estejam associados ao desenvolvimento da síndrome metabólica em mulheres (QI *et al.*, 2008).

Existem evidências de que no DM tipo 2 há um aumento na PCR, IL-6 e no TNF alfa. Por outro lado, os níveis elevados de PCR e IL-6 podem ser considerados como preditores da resistência

à insulina e da disfunção endotelial e conseqüentemente podem estar envolvidos no desenvolvimento do DM tipo 2 (KAJITANI *et al.*, 2010). A PCR é considerada uma ligação entre inflamação e aterosclerose, sendo também um preditor de eventos cardiovasculares (BALDUCCI *et al.*, 2010). Dessa forma, pacientes diabéticos, por exemplo, podem ser divididos em baixo, médio ou alto risco de desenvolver algum tipo de DCV conforme o nível de PCR (PEARSON *et al.*, 2003). Elevados níveis de PCR e fibrinogênio e diminuição nos níveis de adiponectina podem ser usados como um diagnóstico precoce de DM tipo 2 e de suas complicações (SWELLAM *et al.*, 2009).

O TNF alfa está correlacionado com a resistência à insulina. Ele é produzido pelos adipócitos e está aumentado na obesidade tanto em roedores como em humanos. A diminuição do TNF alfa em ratos obesos está associada à melhora da sensibilidade à insulina (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1994; MONTANI *et al.*, 2002; DANDONA *et al.*, 2004). A IL-6 é uma citocina que também pode estar associada ao DM tipo 2, já que essa citocina estimula a inibição da ação da insulina, levando assim ao aumento da glicose. Portanto, é comum observarmos valores aumentados de IL-6 em pacientes com DM tipo 2. Além disso, pode ocorrer aumento da IL-6 em resposta à hiperglicemia e a resistência à insulina (FERNANDEZ-REAL & RICART, 2003; CARVALHO *et al.*, 2006). Uma possível explicação para essa relação do TNF alfa e da IL-6 ao aumento na resistência à insulina é que esses mediadores inflamatórios interferem negativamente na ação da insulina, interferindo no efeito anti-inflamatório da insulina, aumentando assim o estado inflamatório. O TNF alfa provoca a inibição da autofosforilação de resíduos de tirosina dos receptores de insulina (IR) e induz a fosforilação da serina do IRS-1 que por sua vez leva a fosforilação da serina do IR nos adipócitos e inibe a fosforilação da tirosina. A IL-6 também tem efeitos na inibição da transdução da sinalização da insulina nos hepatócitos (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1994; MONTANI *et al.*, 2002; DANDONA *et al.*, 2004).

De fato, o aumento no perfil inflamatório observado por aumento nas concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF α são vistos não apenas no quadro de resistência a insulina e DM tipo 2, mas também podemos observar esse aumento na obesidade. Além disso, o aumento nos mediadores inflamatórios pode ser preditor de risco para o futuro desenvolvimento de DM tipo 2 e da obesidade (SCHMIDT *et al.*, 1999; DANDONA *et al.*, 2004). Outro fator que pode relacionar o DM tipo 2 e a obesidade ao estado de inflamação é o fato da própria insulina exercer efeitos anti-inflamatórios, ou seja, a própria resistência à insulina por si só, aumenta a inflamação e o EO (DANDONA *et al.*, 2004).

Em contrapartida, a adiponectina tem um efeito benéfico no DM tipo 2, aumentando a sensibilidade à insulina no fígado, músculo e tecido adiposo, mediado pelo aumento na oxidação de gordura nesses tecidos. Tapsell *et al.* demonstraram que existe correlação negativa entre adiponectina e resistência à insulina, bem como correlação positiva entre leptina plasmática e resistência à insulina (TAPSELL *et al.*, 2004). A adiponectina também está relacionada com a diminuição dos triglicerídeos, da PA diastólica e da concentração de receptores de TNF alfa. O aumento na adiponectina também pode estar relacionado à diminuição no risco de se desenvolver DM tipo 2, o que reflete a interação entre adiponectina e resistência à insulina (LINDSAY *et al.*, 2002; KAHN *et al.*, 2005). Além disso, a adiponectina se correlaciona com o balanço simpato-vagal em sujeitos diabéticos tipo 2. Quando ocorre aumento da modulação simpática, ocorre a diminuição dos níveis de adiponectina (WAKABAYASHI & ASO, 2004).

Assim como o DM tipo 2, a obesidade também pode ser considerada um estado de inflamação crônica no qual se observa aumento da proteína C reativa, do IL-6 e do PAI-1 (LUNDGREN *et al.*, 1996). Além disso, a diminuição da gordura corporal em pacientes diabéticos

foi associada à diminuição do TNF alfa, da IL-6 e do PAI – 1 e ao aumento da adiponectina o que foi associado à melhora da resistência à insulina (ALDHAHI & HAMDY, 2003).

Outro fato interessante é que o aumento de TNF alfa e da IL-6 em sujeitos com hiperglicemia foi revertido com a infusão de uma substância antioxidante, a glutathiona, sugerindo que a produção de citocinas induzida pela hiperglicemia é mediada pelas espécies reativas de oxigênio (PICKUP, 2004).

O aumento de citocinas pró-inflamatórias tem sido relacionado com o aumento na secreção de angiotensina II. A angiotensina II é o componente biológico ativo do sistema renina-angiotensina (SAYE *et al.*, 1993). Acredita-se que o sistema renina angiotensina (SRA) tenha um papel crucial nos diferentes estágios de progressão das doenças cardiovasculares, uma vez que este sistema é essencial na regulação dos processos fisiológicos do sistema cardiovascular. O SRA não atua apenas como um sistema endócrino, mas também desempenha funções parácrina e autócrina nos tecidos e órgãos. O balanço entre SRA endócrino e tecidual regula as funções cardiovasculares em curto prazo, enquanto o sistema tecidual é responsável pelas mudanças em longo prazo (LINDPAINTNER & GANTEN, 1991; KRAMKOWSKI *et al.*, 2006).

Evidências sugerem que o aumento nos níveis de angiotensina II contribui com a obesidade e com a resistência à insulina (MASSIERA *et al.*, 2001). Metabolicamente, a angiotensina II contribui para o aumento dos ácidos graxos e dos níveis de triglicérides, inibição da lipólise no tecido adiposo e no tecido muscular esquelético, prejuízo na secreção de insulina pelo pâncreas e redução da sensibilidade à insulina em tecidos periféricos. Centralmente, a angiotensina II ativa o sistema nervoso simpático alterando a sensibilidade barorreflexa (CHU & LEUNG, 2009; SENADOR *et al.*, 2009). Em camundongos ob/ob, a inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), diminui a modulação simpática e melhora a sensibilidade barorreflexa, sugerindo que a angiotensina II está

associada ao desequilíbrio da modulação autonômica em camundongos com deficiência de leptina (HILZENDEGER *et al.*, 2010). Além disto, há evidências de que a angiotensina II diminui a biodisponibilidade de óxido nítrico, diminuindo as defesas antioxidantes do organismo e induz aumento na produção de NADPH no pâncreas. Essa produção de NADPH por sua vez, provoca o aumento do EO fazendo com que haja apoptose das células β (SCHULMAN *et al.*, 2006; CHU & LEUNG, 2009).

Por muito tempo, acreditou-se que a angiotensina II era o único efetor de toda a variedade de ações fisiológicas e fisiopatológicas induzidas pelo SRA. No entanto, o acúmulo de evidências aponta para a existência de outros peptídeos biologicamente ativos pertencentes ao sistema. A angiotensina 1-7, considerada um peptídeo tão importante quanto a angiotensina II, é formada diretamente a partir da angiotensina II ou indiretamente a partir da angiotensina I por meio da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Acredita-se que as ações deste fragmento sejam opostas às da angiotensina II e que a maior parte de seus efeitos seja mediada pelo receptor Mas [20-27]. Neste sentido, além do heptapeptídeo contra-regular muitas das ações da angiotensina II, ele agiria também como um inibidor endógeno deste potente vasoconstritor (FERRARIO *et al.*, 2005). A angiotensina 1-7, possui propriedades anti-hipertensivas, antitrombóticas e antiproliferativas (TESANOVIC *et al.*, 2010). Nos seres humanos, a angiotensina 1-7 atenua a vasoconstrição induzida pela angiotensina II em vasos resistentes (UEDA *et al.*, 2000). Dessa forma, a angiotensina 1-7 pode contrabalançar ou opor-se aos efeitos prejudiciais da angiotensina II (HAYASHI *et al.*, 2010). Foi demonstrado que o tratamento com angiotensina 1-7 pode atenuar a lesão de órgão-alvo em modelos de diabetes, hipertensão e disfunção endotelial (OUDIT *et al.*, 2010). Adicionalmente, a angiotensina 1-7 inibe a NADPH oxidase em animais diabéticos e atenua o estresse oxidativo (AL-MAGHREBI *et al.*, 2009; RABELO *et al.*, 2011).

Estudos têm demonstrado que a angiotensina 1-7 também participaria na função dos sistemas nervosos (central e periférico), endócrino, renal e cardíaco. Seu papel como neurotransmissor central e periférico ainda é controverso. A angiotensina 1-7 na vasculatura tem efeitos que se opõem aos da angiotensina II, induzindo a vasodilatação, diretamente via o seu receptor Mas e indiretamente por meio da interação com os sistemas da bradicinina (FERRARIO, 2010), das prostaglandinas e do óxido nítrico (NO) (WATANABE *et al.*, 2005). Este peptídeo induz o relaxamento da artéria coronária de porcos e cães (OSEI *et al.*, 1993; PORSTI *et al.*, 1994), de microvasos cerebrais de pequenos porcos geneticamente modificados (MENG & BUSIJA, 1993) e do leito mesentérico de gatos (OSEI *et al.*, 1993), provavelmente via liberação de NO. Além das ações citadas, tem-se atribuído a angiotensina 1-7 efeitos antifibrótico e antihipertrófico em coração e rins (TAO *et al.*, 2014).

1.4. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS DISFUNÇÕES ASSOCIADAS AO DIABETES

Atualmente a prática regular de exercícios físicos tem pouca aderência da população e o sedentarismo pode ser considerado como o provável fator causador de um grande aumento na ocorrência de DCV em todo o mundo (MUIR *et al.*, 1992; American Heart Association 71st scientific sessions. Dallas, Texas, USA. November 8-11, 1998. Abstracts, 1998). Por outro lado, os benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos após o exercício físico agudo e crônico têm levado muitos investigadores a sugerir o treinamento físico como uma conduta não-farmacológica importante na prevenção e no tratamento de diferentes patologias (TIPTON, 1991; TUOMILEHTO *et al.*, 2001).

Um estudo com homens e mulheres portadores de síndrome metabólica mostrou que após um período de seis meses de treinamento físico aeróbio associado à dieta ocorreu a diminuição do índice de massa corporal, dos níveis de triglicérides, de colesterol, de glicose sanguínea, de pressão arterial sistólica e diastólica (DRAGUSHA *et al.*, 2010). Já em pacientes com predisposição à síndrome metabólica, foi observado que o treinamento físico aeróbio aumentou a adiponectina sérica (RING-DIMITRIOU *et al.*, 2006).

Experimentalmente, machos e fêmeas SHR apresentam melhora cardiovascular e autonômica após o treinamento físico aeróbio (SILVA *et al.*, 1997; COIMBRA *et al.*, 2008; SANCHES *et al.*, 2012). Em nosso grupo, demonstramos que o treinamento físico aeróbio dinâmico em um modelo experimental de menopausa em ratas induziu redução do peso corporal, bradicardia de repouso, normalização dos valores de pressão arterial e melhora da sensibilidade dos pressorreceptores (Irigoyen *et al.*, 2005). Benefícios cardiovasculares e autonômicos foram também observados por nosso grupo em ratas diabéticas ooforectomizadas (SOUZA *et al.*, 2007), dislipidêmicas ooforectomizadas (HEEREN *et al.*, 2009), bem como na associação de treinamento físico e reposição hormonal (FLUES *et al.*, 2010).

Considerando que a neuropatia autonômica é uma complicação de grande prevalência em diabéticos e aumenta significativamente a morbidade e a mortalidade dessa população (HILSTED *et al.*, 1979; NATHAN *et al.*, 1996), tem sido sugerido que a atividade física aeróbia dinâmica poderia ter efeito benéfico na prevenção do DM tipo 2 e de disfunções associadas (ZIPES & WELLENS, 1998). Neste aspecto, existem evidências de que o treinamento físico melhore a modulação vagal levando a uma melhora do balanço do sistema nervoso autonômico cardíaco (IELLAMO *et al.*, 2002).

Estudos de nosso grupo demonstraram melhora no controle autonômico em animais submetidos a um protocolo de treinamento físico aeróbio. Em camundongos machos submetidos a um programa de treinamento físico aeróbio, nosso grupo demonstrou que esse modelo apresenta bradicardia de repouso e melhora na sensibilidade barorreflexa, que podem ser explicadas pelo aumento no tônus vagal e diminuição do tônus simpático (DE ANGELIS *et al.*, 2004). Já em modelos de diabetes, o treinamento físico levou à melhora no tônus vagal (DE ANGELIS *et al.*, 2000; HARTHMANN *et al.*, 2007) e no balanço simpato-vagal (MOSTARDA *et al.*, 2009).

Em camundongos LDL-knockout fêmeas, nosso grupo observou que o treinamento físico aeróbio reduziu o colesterol sanguíneo, a PA e a FC. Adicionalmente, os exercícios regulares aumentaram a sensibilidade barorreflexa, a VFC e a banda de alta frequência (representativa da modulação vagal cardíaca) nesses animais (HEEREN *et al.*, 2009). Também observamos benefícios induzidos pelo treinamento físico aeróbio em ratas ooforectomizadas diabéticas, nas quais se observou melhora no tônus simpático, vagal e da VFC (SOUZA *et al.*, 2007).

De fato, a prática regular de exercícios aeróbios dinâmicos pode melhorar a modulação do sistema nervoso autônomo, melhorando assim, a VFC (FURLAN *et al.*, 1993). Zoppini *et al.* verificaram que pacientes diabéticos após um programa de treinamento físico aeróbio apresentaram aumento da modulação vagal e diminuição da modulação simpática (ZOPPINI *et al.*, 2007). Interessantemente a melhora da função autonômica cardiovascular foi independente de mudanças no peso corporal e do controle glicêmico nesse estudo.

O treinamento físico aeróbio pode induzir um aumento na atividade das enzimas antioxidantes em ratos após 12 semanas de treinamento (JENKINS, 1983). De fato, estudos de nosso grupo em animais submetidos a treinamento físico evidenciaram redução do EO e aumento das enzimas antioxidantes, que foram correlacionados com melhora em parâmetros cardiovasculares e

autonômicos inclusive em ratas ooforectomizadas (DE ANGELIS *et al.*, 1997; IRIGOYEN *et al.*, 2005; BERTAGNOLLI *et al.*, 2006; BERTAGNOLLI *et al.*, 2008). Estudos também demonstraram benefícios na ação inflamatória associada ao treinamento físico em indivíduos saudáveis (PETERSEN & PEDERSEN, 2005) e em pacientes com predisposição a síndrome metabólica (RING-DIMITRIOU *et al.*, 2006).

Os benefícios do exercício aeróbio em diversas situações patológicas, inclusive no DM, têm sido bastante estudados. No entanto, os efeitos do exercício resistido (ou de força), mesmo que de baixa intensidade não foram comprovados (HAGBERG *et al.*, 2000; KELLEY & KELLEY, 2000). Embora esse tipo de treinamento já tenha sido reconhecido por seus benefícios na massa e força muscular, os benefícios para a saúde cardiovascular do treinamento resistido foram incluídos nas recomendações de treinamento e reabilitação apenas em 1990 (American College of Sports Medicine position stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness in healthy adults, 1990). Em 2007 e 2009 a AHA e o ACSM destacam o papel do treinamento físico resistido para melhora da resistência e força muscular e melhora na qualidade de vida (HASKELL *et al.*, 2007; MARWICK *et al.*, 2009).

Vale destacar que até pouco tempo atrás apenas os exercícios aeróbios eram recomendados, enquanto os exercícios resistidos eram ignorados quando a preocupação estava voltada para o sistema cardiovascular. Devido a esse fato, por muitos anos, pouquíssimos estudos foram realizados para avaliar os efeitos do exercício resistido - no qual a contração muscular é realizada contra uma força que se opõe ao movimento (FLECK & KRAMER, 1999) - para a função cardiovascular. Neste sentido, alguns benefícios também podem ser observados após o treinamento físico resistido como diminuição do peso corporal (HAUSER *et al.*, 2004), controle do perfil metabólico, controle da

pressão arterial (MEDIANO *et al.*, 2005), como também, manutenção ou diminuição da pressão arterial diastólica dependendo da população estudada (FORJAZ *et al.*, 2003).

Além disso, o treinamento resistido tem recebido maior atenção, pois, alguns trabalhos demonstram que essa modalidade de treinamento melhorou o controle glicêmico e melhora a força e resistência muscular em portadores de DM tipo 2 (EVES & PLOTNIKOFF, 2006; THOMAS *et al.*, 2006; SIGAL *et al.*, 2007). Porém, apesar de poucos estudos realizados com treinamento resistido, já existem indícios de que ele possa ser benéfico na função cardíaca (POLLOCK & VINCENT, 1996).

Acredita-se que em pacientes hipertensos a utilização do treinamento resistido é um importante complemento ao treinamento aeróbio devido aos seus benefícios osteomusculares (CARDOSO *et al.*, 2010). Em marcadores hematológicos, no peso corporal, em níveis de insulina e de glicose plasmáticos, tanto em homens quanto em mulheres saudáveis não foram observadas alterações significantes após um programa de treinamento resistido de 6 meses de duração (BOBEUF *et al.*, 2009).

De fato, em um estudo de Tanasecu *et al.* o treinamento de força foi associado à diminuição de 23% no risco para a incidência de infarto não fatal e DCV fatal (TANASESCU *et al.*, 2002). Além disso, foi demonstrado que o treinamento resistido pode ajudar no controle glicêmico e na resistência a insulina em pacientes diabéticos (RYAN, 2000). Em um estudo de Cauza demonstrou-se que o treinamento resistido, comparado ao treinamento aeróbio, foi mais eficiente em melhorar o controle glicêmico e o perfil lipídico em pacientes diabéticos tipo 2 (CAUZA *et al.*, 2005). De fato, em pacientes com DM tipo 2, o treinamento resistido melhorou os níveis de colesterol, triglicérides além de diminuir a pressão arterial sistólica (ARORA *et al.*, 2009). Adicionalmente, uma recente metanálise demonstrou que o treinamento de força é capaz de reduzir a hemoglobina glicada, a

massa gorda e a pressão arterial sistólica em pacientes com síndrome metabólica (STRASSER *et al.*, 2010).

Por outro lado, estudos sugerem que a associação do treinamento físico aeróbio e resistido pode ser mais efetiva na redução da hemoglobina glicada e da resistência à insulina (ZANUSO *et al.*, 2010; JORGE, M. L. *et al.*, 2011) sendo que a associação dos dois tipos de treinamento foi mais efetiva em melhorar a sinalização da insulina (IRS 1) em pacientes diabéticos (JORGE, M. L. *et al.*, 2011).

Atualmente, o Colégio Americano de Ciências do Esporte recomenda a realização de exercícios resistidos em complemento aos aeróbios dinâmicos para indivíduos com hipertensão arterial, doença vascular periférica, DM tipo 2, obesidade e outras comorbidades (ACSM, 2003). Neste sentido, a literatura internacional tem adotado com frequência os termos *treinamento combinado* ou *concorrente* para se referir aos programas que combinam treinamento aeróbio dinâmico com treinamento resistido num mesmo período de tempo (MAIORANA *et al.*, 2002; PAULO *et al.*, 2005). Hickson et al. demonstraram que o treinamento físico combinado permitiu aos sujeitos suportar por mais tempo uma atividade aeróbia no cicloergômetro sem o aumento concomitante do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2m\acute{a}x}$), sugerindo que um aumento na força dos membros inferiores poderia aumentar o tempo para atingir a exaustão (HICKSON *et al.*, 1988). Esses resultados indicam que os fatores limitantes do desempenho da resistência aeróbia podem ser mais fortemente relacionados com fatores periféricos e neurais do que com fatores centrais como o $VO_{2m\acute{a}x}$. Todavia, uma questão que surge é como deve ser realizada a combinação dos treinamentos resistido e aeróbio. Sale et al. mostraram que o treinamento combinado no mesmo dia pode causar prejuízo no desenvolvimento da força, concluindo que os treinamentos (resistido e aeróbio) devem ser realizados em dias alternados para obtenção de maiores benefícios (SALE *et al.*, 1990).

Ao analisar os efeitos do treinamento físico combinado em indivíduos diabéticos tipo 2, Maiorana et al. observaram redução da FC submáxima de exercício, do limiar ventilatório, do percentual de gordura corporal, da relação cintura-quadril, da glicemia de jejum e da hemoglobina glicada, aumento da força muscular, da massa magra e do VO₂máx, melhora da capacidade funcional e do controle glicêmico após 8 semanas de treinamento (MAIORANA *et al.*, 2002). Carrier et al. compararam os efeitos do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado, e demonstraram que o controle glicêmico (redução da hemoglobina glicada) foi melhor nos indivíduos diabéticos tipo 2 submetidos ao treinamento físico combinado em relação aos outros treinamentos (aeróbio ou resistido) (CARRIER, 2008). Todavia tais estudos, além de não avaliar especificamente mulheres, não estudaram as alterações cardiovasculares e autonômicas, bem como os mecanismos envolvidos nos benefícios desta prática.

É importante destacar que estudos demonstram que o risco de desenvolvimento de diabetes associado a fatores genéticos é maior na população sedentária, sugerindo que o aumento do risco em desenvolver DM pode ser diminuído (ou até mesmo eliminado) com aumento no nível de atividade física (HU *et al.*, 1999; SARGEANT *et al.*, 2000; SARTORI *et al.*, 2009). Além disso, em trabalhos feitos com populações geneticamente predispostas a desenvolver DM, o total de atividade física foi associado inversamente com alterações de 3 fatores de risco: insulina, triglicérides e colesterol HDL, sugerindo que a redução de movimento corporal pode se relacionar com a resistência à insulina e a dislipidemia (EKELUND *et al.*, 2007).

Sabendo que a incidência de DCV aumenta de forma significativa em todo o mundo, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes diabéticos, é crescente a preocupação de profissionais da área da saúde na busca de alternativas para o tratamento das DCV. Apesar de não se saber como ocorre a interação entre os diversos mecanismos que causam as DCV, sabe-se que

existe uma estreita relação entre eles. A partir de diversos estudos, sugere-se que o aumento do EO cause danos ao sistema nervoso autônomo. Além disso, diversos autores demonstraram que quando há um aumento no EO também se observa aumento nos marcadores de inflamação e nos níveis circulantes de angiotensina II. Portanto, intervenções que possam diminuir alguma dessas disfunções acima descritas, provavelmente desencadeiem a melhora dos mecanismos como um todo. Nesse sentido, os benefícios do treinamento físico aeróbio já têm sido explorados e comprovados há muitos anos, fazendo dele uma forma de tratamento não-farmacológico importante em diversas situações patológicas, inclusive no DM. Porém, a maioria dos estudos têm se preocupado em estudar apenas a doença já estabelecida, ficando a dúvida de sua importância na prevenção de disfunções precoces associadas ao DM. Além disso, pouco se sabe sobre o papel do treinamento resistido ou combinado como forma preventiva do DM tipo 2 e sua implicação nas alterações relacionadas a essa doença. Por fim, vale salientar, que a maior parte dos estudos que se preocupou em estabelecer uma relação entre DCV e treinamento físico foram feitos em amostras do sexo masculino. Considerando o exposto, no presente estudo buscamos avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado, iniciado logo após o desmame até a fase adulta em camundongos fêmeas ob/ob, em parâmetros de cardiovasculares, na modulação autonômica cardiovascular, , em parâmetros de estresse oxidativo, de inflamação e do sistema-renina-angiotensina.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar o papel do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado (aeróbio+resistido) no desenvolvimento do diabetes tipo 2 analisando mecanismos associados às complicações no diabetes em camundongos fêmeas com deficiência na produção leptina (ob/ob).

2.2. Objetivo Específico

O objetivo específico do presente trabalho foi avaliar o papel do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado no desenvolvimento do diabetes tipo 2 em camundongos fêmeas ob/ob analisado os seguintes parâmetros:

- ✓ **metabólicos:** peso corporal; glicose, triglicérides e colesterol total sanguíneos; e resistência à insulina;
- ✓ **de capacidade funcional:** teste de esforço máximo e teste de carga máxima;
- ✓ **hemodinâmicos:** pressão arterial e frequência cardíaca;
- ✓ **autonômicos:** sensibilidade barorreflexa; variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial; e catecolaminas no tecido adiposo;
- ✓ **inflamatórios e hormonais:** angiotensina 2 e 1-7 nos tecidos cardíaco, renal e adiposo; e adiponectina, IL6 e TNF alfa e PAI-1 em baço e tecido adiposo;

- ✓ **de estresse oxidativo:** lipoperoxidação de membrana, proteínas oxidadas, atividade das enzimas glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase nos tecidos cardíaco e renal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para cumprir os objetivos propostos, esse trabalho foi dividido em 3 estudos:

Estudo 1

No estudo 1, o objetivo foi avaliar as alterações metabólicas, hemodinâmicas, autonômicas, hormonais, inflamatórias e no estresse oxidativo em camundongos ob/ob adultos, sendo comparados os seguintes grupos:

- ✓ Grupo I-**Selvagens sedentárias (SS)**: acompanhados por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida;
- ✓ Grupo II- **ob/ob sedentárias (OS-12)**: acompanhados por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida;

Estudo 2

No estudo 2, nosso objetivo foi comparar animais ob/ob com idade correspondente ao início do protocolo (4 semanas de vida) com animais ob/ob com idade correspondente ao final do protocolo (12 semanas de vida) com relação à aspectos metabólicos, hemodinâmicos, autonômicos, hormonais e no estresse oxidativo, visando compreender o desenvolvimento das disfunções neste modelo. Para isso utilizamos 2 grupos:

- ✓ Grupo I-**ob/ob sedentárias com 4 semanas de vida (OS-4): acompanhados por 4 semanas, sendo avaliados e após** submetidas à eutanásia com 4 semanas de vida;
- ✓ Grupo II- **ob/ob sedentárias (OS-12):** acompanhados por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida.

Estudo 3

No estudo 3, nosso objetivo foi avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio, resistido ou combinado em parâmetros metabólicos, hemodinâmicos, autonômicos, hormonais, inflamatórios e de estresse oxidativo em camundongos ob/ob. Para isso utilizamos os seguintes grupos:

- ✓ Grupo I- **ob/ob sedentárias (OS-12):** acompanhados por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida;
- ✓ Grupo II- **ob/ob treinamento aeróbio (OA):** submetidas a treinamento físico dinâmico aeróbio em esteira por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida;
- ✓ Grupo III- **ob/ob treinamento resistido (OR):** submetidas a treinamento físico dinâmico resistido em escada por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida;
- ✓ Grupo IV- **ob/ob treinamento combinado (OC):** submetidas a treinamento físico dinâmico combinado (esteira+escada) por 8 semanas, sendo avaliadas com 12 semanas de vida.

3.1. Amostra- Foram utilizados camundongos fêmeas, selvagens e ob/ob. Todos os animais iniciaram o protocolo com 4 semanas de idade. Os camundongos foram provenientes do biotério da Universidade Federal de São Paulo, e foram mantidos no Biotério da Divisão de Hipertensão

Experimental, Incor, FMUSP. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob número 013/12 (Anexo 1).

Os camundongos com deficiência na leptina (ob/ob) são considerados um bom modelo de diabetes tipo 2 por apresentarem hiperglicemia e resistência à insulina, além de manifestarem características de neuropatia periférica diabética (OZATA *et al.*, 1999; HASTY *et al.*, 2001; DREL *et al.*, 2006; JI *et al.*, 2010).

Os animais foram mantidos em gaiolas, em ambiente com temperatura controlada (22° - 24°C) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro - escuro, invertido) e alimentados com água e ração padrão “ad libitum”. Os grupos treinados foram submetidos ao protocolo de treinamento a partir da 4ª semana de vida, durante 8 semanas (PEREIRA *et al.*, 2009).

4. PROCEDIMENTOS

4.1. Teste de Esforço Máximo Aeróbio- O teste de esforço consistiu em um protocolo escalonado com incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que fosse atingida a velocidade máxima suportada pelos animais. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o camundongo não fosse mais capaz de correr mediante o incremento de velocidade da esteira (HEEREN *et al.*, 2009).

4.2. Treinamento Físico Aeróbio- Os grupos de camundongos treinados aerobicamente foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica com velocidade e carga progressiva (1 hora dia/ 5 dias por semana/ 50-60% da velocidade máxima de esforço) durante 8 semanas (HEEREN *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2009).

4.3. Determinação da carga máxima para o treinamento resistido- O teste de carga máxima foi realizado em uma escada adaptada para camundongos com 55 degraus verticais de 0,2 cm. Durante o período de adaptação, os animais foram colocados nos degraus inferiores e adaptados ao ato de escalar. Nenhuma recompensa ou alimento foi oferecido, tampouco foi utilizada estimulação elétrica para que os animais executassem o exercício. No topo da escada, os animais encontravam uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde descansavam por 120 segundos. Este procedimento foi repetido até que os animais subissem a escada voluntariamente 3 vezes consecutivas. Após o período de adaptação, foi realizado o teste de carga máxima. Os animais subiam 2 vezes sem nenhuma carga e após essas subidas, era aplicado 75% do peso corporal do animal. Após completar o carregamento dessa carga com sucesso, um peso adicional de 30% do peso corporal do animal era adicionado ao aparato. Esse

procedimento foi sucessivamente repetido até que a carga alcançasse um peso que não permitisse que o camundongo escalasse. O teste de carga máxima foi feito novamente 48 horas depois, sendo que os animais subiam duas vezes sem carga e a carga inicial era o resultado da carga final alcançada no primeiro teste de esforço. Após essa escalada, era adicionado 30% do peso corporal. Esse procedimento foi sucessivamente repetido até que a carga alcançasse um peso que não permitisse que o camundongo escalasse e essa foi considerada a carga máxima do animal.

4.4. Treinamento resistido- O número de escaladas (repetições) foi aumentada progressivamente ao longo das 8 semanas. O treinamento iniciou com 15 escaladas, aumentando a carga progressivamente durante as escaladas e as semanas de protocolo. Ao final da 4ª semana realizamos um novo teste de esforço, para reajustar as cargas para as semanas subsequentes sendo que o número de escaladas chegou a 20 até o final do protocolo. O treinamento resistido foi realizado com carga moderada (40% a 60% da carga máxima) conforme recomendado para pacientes diabéticos (SIGAL *et al.*, 2004).

4.5. Treinamento Físico Combinado- O treinamento físico combinado também teve duração de 8 semanas e consistiu na realização de sessões alternadas de exercício aeróbio (esteira rolante) e resistido (escada). A intensidade seguiu os mesmos critérios já descritos anteriormente. A opção por realizar as sessões em dias alternados justifica-se devido a estudos (SALE *et al.*, 1990) alertarem que o treinamento combinado realizado no mesmo dia pode causar prejuízo no desenvolvimento da força muscular.

4.6. Glicemia, Triglicérides e Colesterol Sanguíneo - No início, ao final da 4ª semana de treino e ao final do protocolo (8 semanas de treino), foram medidas as concentrações de glicose (Accucheck).

No final do protocolo, realizamos as medidas de triglicérides e colesterol total (Accutrend, Roche) . Esses testes foram realizados através de uma gota de sangue retirada da cauda, após 4 horas de jejum.

4.7. Teste de Tolerância a Glicose – Ao final do protocolo, foi realizado o GTT usando uma injeção intraperitoneal de glicose (1,5 g/kg). Os camundongos foram submetidos a jejum de 6 horas e amostras de sangue da cauda foram coletadas para as medidas basais (antes da injeção de glicose) e 15, 30, 60 e 90 minutos após a injeção de glicose. Os resultados foram obtidos através do cálculo da área sobre a curva.

4.8. Pletismografia de Cauda – No início, ao final da 4ª semana de protocolo e ao final do protocolo (8ª semana), foram realizadas medidas de pressão arterial através da pletismografia de cauda (2000 Series II Blood Pressure Analysis System, Visitech Systems). Os animais foram adaptados durante 3 dias consecutivos, nos quais foram realizadas 15 medidas, com intervalo de 30 segundos entre as medidas. Após o período de adaptação, foram realizados os registros de pressão arterial. Da mesma forma que na adaptação, foram realizadas 15 medidas, com intervalo de 30 segundos entre as medidas.

4.9. Canulação- Após o período de treinamento ou acompanhamento, os animais foram anestesiados com uma mistura de cetamina e xilazina (120:20 mg/Kg im) e mantidos em mesa cirúrgica aquecida (37° C) para colocação de cânulas na artéria carótida para registro da PA e da FC e, na veia jugular, para a injeção de drogas. Os camundongos anestesiados foram colocados em decúbito dorsal e foi realizada uma incisão mediana na região cervical e separação da musculatura pré-traqueal para

localização da veia jugular e a artéria carótida. Foram implantadas cânulas de Tygon (0,05 mm de diâmetro interno), com 3,0 cm de comprimento, soldadas a um segmento de Cloreto de Polivinila (0,05 mm de diâmetro interno), com 4,0 cm de comprimento e preenchidas com solução fisiológica. A extremidade de cloreto de polivinila foi introduzida e fixada no vaso e a extremidade de Tygon foi exteriorizada no dorso do animal na região cervical e fixada com fio de polipropileno na pele. Com o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm, permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético de pressão (Kent Instruments) que, por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Stemtech). Sinais de PA foram gravados durante um período de 30 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, DATAQ Instruments), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 4KHz por canal para estudo dos valores de PA e FC (DE ANGELIS LOBO D'AVILA *et al.*, 1999; DE ANGELIS *et al.*, 2000; DE ANGELIS *et al.*, 2004; HEEREN *et al.*, 2009).



Figura 1- Fotos ilustrativas da canulação da artéria carótida e veia jugular no camundongo.

4.10. Registro de Pressão Arterial e Avaliação da Sensibilidade dos Pressorreceptores- Após o registro de 30 minutos da PA e da FC em repouso, foi testada a sensibilidade dos pressorreceptores, através da infusão de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio que foram infundidos randomicamente entre os animais. O pico máximo ou mínimo da PAM foi comparado aos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi comparada com os valores de FC do período controle, imediatamente antes da injeção das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (DE ANGELIS LOBO D'AVILA *et al.*, 1999; DE ANGELIS *et al.*, 2004; IRIGOYEN *et al.*, 2005).

4.11. Avaliação da Modulação Autonômica Cardiovascular- A variabilidade da FC e da PAS foi avaliada no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência usando a transformada rápida de *Fourier*. Neste método, séries temporais do intervalo de pulso e da PAS foram divididas em segmentos de 350 batimentos com sobreposição de 50%. Um espectro foi obtido para cada um dos segmentos e os componentes oscilatórios dos espectros foram quantificados em 2 faixas de frequência: baixa frequência (BF) e alta frequência (AF). A potência do espectro foi calculada para cada componente reconhecível nas faixas de BF e AF integrando-se os espectros dos componentes. Os segmentos que apresentarem oscilações muito lentas ($<0,1$ Hz) foram considerados não estacionários e são descartados do estudo. A sensibilidade barorreflexa espontânea foi obtida pelo índice α , analisando a correlação temporal e linear entre o intervalo RR e a variabilidade da PAS (SOARES *et al.*, 2004; HEEREN *et al.*, 2009; MOSTARDA *et al.*, 2009).

4.12. Eutanásia dos Animais- No dia seguinte ao término das avaliações metabólicas, os animais de todos os grupos foram submetidos à eutanásia por decapitação e os tecidos foram retirados e congelados para avaliações bioquímicas.

4.13. Identificação da Fase do Ciclo Estral

A fim de evitarmos qualquer influência das oscilações dos hormônios sexuais femininos, foi realizada a identificação da fase do ciclo estral dos camundongos antes de todas as avaliações (teste de esforço aeróbio e de força máxima, avaliações ecocardiográficas, registros de pressão arterial e eutanásia).

A secreção vaginal foi coletada com uma pipeta plástico com solução salina (NaCl 0,9%) introduzida superficialmente na vagina do camundongo. O fluido vaginal foi colocado em uma lâmina de vidro para observação do material em microscópio óptico nos aumentos de 10X e 40X. A caracterização da fase do ciclo estral foi baseada na proporção de três tipos de células na secreção vaginal: células epiteliais, células corneificadas e leucócitos. As avaliações foram realizadas nas fases não ovulatórias do ciclo estral dos camundongos: diestro (predominância de leucócitos) e metaestro (igual proporção de leucócitos, células corneificadas e epiteliais)(MARCONDES *et al.*, 2002) (Figura 2).

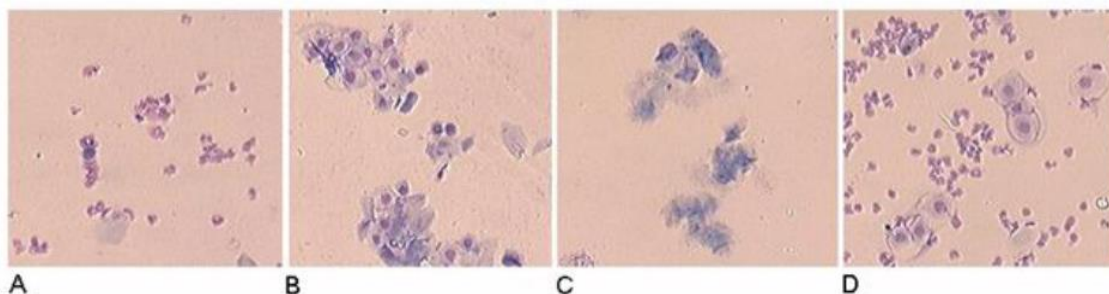


Figura 2: Tipos de células encontradas em cada ciclo estral: (A) diestro, (B) proestro, (C) estro e (D) metaestro (MARCONDES *et al.*, 2002).

4.14. Dosagem de catecolaminas- O tecido adiposo foi homogeneizado em 0.2N ácido perclórico com EDTA e Metabissulfito de sódio sendo a Diidroxibenzilamina como padrão. Após, a proteína foi removida e adicionado Tris-HCl (pH 8,9). As catecolaminas foram eluídas por alumina em 0.1 N ácido perclórico. Noroepinefrina foi isolada por HPLC. Noroepinefrina e o padrão foram quantificados com detector eletroquímico (LC-ECD-6A, Shimadzu).

4.15. Determinação das Angiotensinas- Os níveis de angiotensina foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os tecidos cardíaco, adiposo e renal foram pesados e homogeneizados com tampão de fosfato de sódio 100mM, sacarose 340mM, NaCl 300mM, pH 7,2. As amostras foram concentradas em colunas C₁₈ Sep-Pak, ativadas com metanol (5mL), tetrahydrofurano (5mL), hexano (5mL), metanol (5mL) e água (10mL). Após a aplicação das amostras e lavagem das colunas com água, os peptídeos de interesse foram eluídos com etanol, ácido acético e água (90:4:6). Os eluatos foram então liofilizados e redissolvidos em 500uL de fase móvel A: 5% ACN (50mL) em a,1% de ácido ortofosfórico (1mL), em um volume final de 1L e filtrados com membrana 0,22 µm. O peptídeo foi separado em uma coluna de fase reversa Aquapore ODS 300 (250X4,6 mm), 7µ utilizando gradiente linear de 5% a 35% de fase móvel B (95% acetonitrila

em H₃PO₄ 0,1%), sob um fluxo de 1,5 mL/min por 40 minutos. Foram utilizados padrões sintéticos como calibradores e a detecção dos peptídeos foram feitas em absorbância de 214 nm. Os cálculos foram efetuados a partir de uma curva padrão de concentração conhecida (RONCHI *et al.*, 2007).

4.16. Marcadores Inflamatórios- As dosagens de adiponectina, interleucinas e TNF alfa foram realizadas em microplacas (96 poços) sensibilizadas com o anticorpo para a proteína de interesse, aderido à parede dos poços da placa por um substrato imunoabsorvente. Foi feito o bloqueio prévio de ligações inespecíficas e posterior incubação das amostras experimentais, contendo a proteína (antígeno) a ser dosada. Foi feita a incubação com anticorpo ligado a enzima marcada com peroxidase, e posterior reação com cromógeno. Na mesma placa, foi feita a curva-padrão, que é usada para o cálculo da quantidade de proteína por poço. A absorbância foi medida em aparelho leitor de ELISA.

4.17. Estresse oxidativo e enzimas antioxidantes

4.17.1. Preparação dos Tecidos- O tecido cardíaco e renal foram coletado e homogeneizado durante 30 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax, com KCl 1,15% e fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), na concentração de 100mmol/L em isopropanol e na quantidade de 10µL/mL de KCl adicionado. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 3000rpm, em centrífuga refrigerada entre 0 e 4°C, e o sobrenadante foi congelado em freezer a -70°C para as dosagens (LLESUY *et al.*, 1985).

4.17.2. Dosagem de Proteínas- As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry e colaboradores, que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL (LOWRY *et al.*, 1951).

4.17.3. Dosagem de Proteínas Oxidadas (Dano a proteínas, carbonilas) - O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente (Reznick&Packer, 1994). A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do tecido com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorvância das carbonilas é medida em um espectrofotômetro a 360nm, em um meio de reação contendo os seguintes reagentes: guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH= 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol - acetato de etila 1:1 (V/V). Paralelamente é realizada a curva padrão de proteína, com albumina, com a absorvância lida em 280nm no espectrofotômetro

4.17.4. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): Para o ensaio TBARS, o ácido tricloroacético (10%, p/v) foi adicionado ao homogeneizado para precipitar as proteínas e para acidificar as amostras (BUEGE *et al.*, 1978). Esta mistura foi, em seguida, centrifugada (10000 g, 3 min), e a amostra livre de proteína foi extraída. O ácido tiobarbitúrico (0,67%, p/v) foi adicionada ao meio de reação. Os tubos foram colocados num banho de água (100°C) durante 15 min. As absorvâncias foram medidas a 535nm usando um espectrofotômetro. Os resultados são expressos como nanomoles por miligrama de proteína.

4.17.5. Catalase (CAT)- A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio é diretamente proporcional à atividade da CAT. Desta forma, o consumo de H_2O_2 pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT. O ensaio consiste em medir a diminuição da absorbância a 240nm, comprimento de onda onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo. Para a realização das medidas é usada uma solução tampão constituída de fosfatos a 50 mmol/L em pH 7,4. São adicionados 9 μ L deste tampão e 10 μ L de amostra de tecido na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir são adicionados 35 μ L de peróxido de hidrogênio (0,3 mol/L) e é monitorada a diminuição da absorbância no espectrofotômetro (BOVERIS & CHANCE, 1973).

4.17.6. Superóxido Dismutase (SOD)- A técnica utilizada está baseada na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm durante 2 minutos. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado. No meio de reação, são utilizados 20 μ L de homogeneizado, 973 μ L de tampão Tris-Fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 8 μ L de pirogalol a 24 mmol/L, 4 μ L de CAT a 30 μ mol/L. Esta curva obtida é utilizada como branco. É também feita uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual é obtida a equação da reta para realização dos cálculos.

4.17.7. Glutathione Peroxidase (GPx) - Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx. A atividade da GPx é medida em um espectrofotômetro, sendo monitorada a diminuição de absorvância do NADPH a 340 nm. Na cubeta do espectrofotômetro, são adicionados 330 µL de tampão, 50 µL do homogeneizado (amostra), 500 µL de NADPH, 10 µL de azida sódica, 50 µL de GSH e 10 µL de GR. É registrada a absorvância por um período de aproximadamente 2 minutos, para obtenção da linha de base. Após esse momento, são adicionados 50 µL de hidroperóxido de tert-butila, e a diminuição da absorvância devida ao consumo de NADPH é monitorada por mais 3 minutos (FLOHE & GUNZLER, 1984).

5.0. Análise Estatística - Os dados serão apresentados como média \pm erro padrão da média. O teste t de student (estudos 1 e 2) e o teste de análise de variância (ANOVA) de um caminho (estudo 3) ou para medidas repetidas (para as análises feitas 1º semana vs. 8º semana) seguido do teste complementar de Student Newman-Keuls foram devidamente aplicados para comparação dos dados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

6. RESULTADOS

ESTUDO 1

6.1. Peso Corporal

A Figura 3 apresenta o acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo nos grupos SS e OS-12.

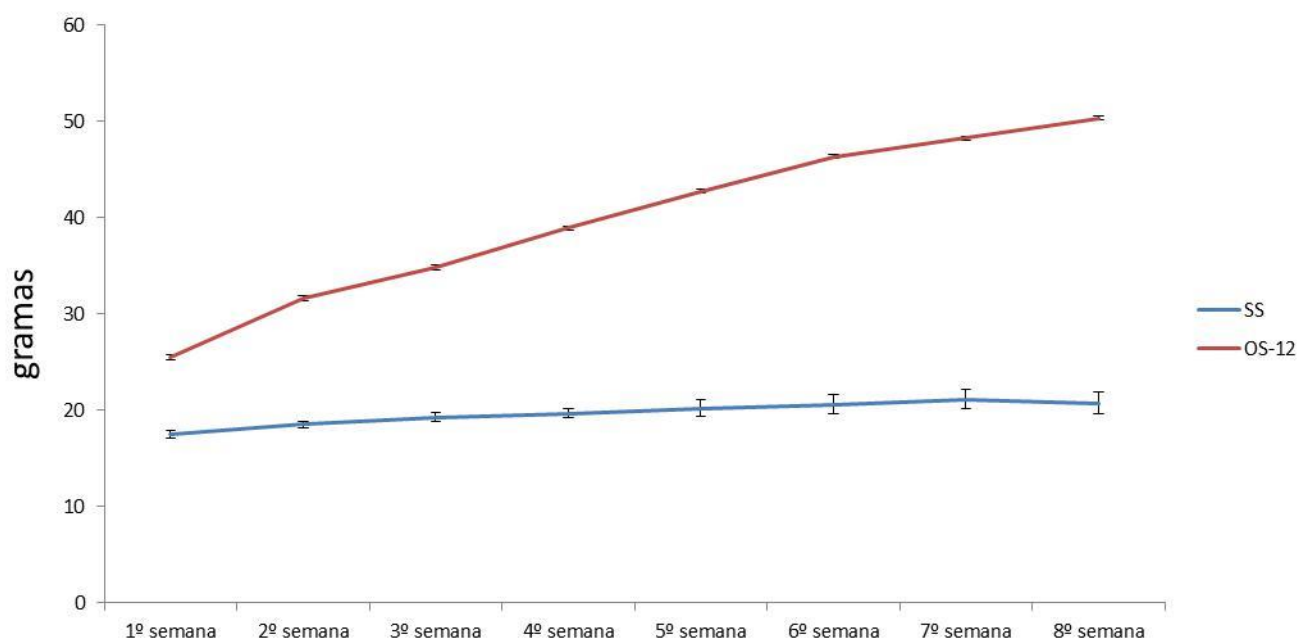


Figura 3. Acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).

No início e no final do protocolo, observamos que o peso corporal do grupo de camundongos ob/ob (OS-12: $26 \pm 0,3$ e $50 \pm 0,5$ gramas) foi maior quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS: $17 \pm 0,3$ e $20 \pm 0,2$ gramas) (Figura 4). Além disso, observamos aumento do peso corporal no final do protocolo quando comparado ao início do protocolo no grupo OS-12.

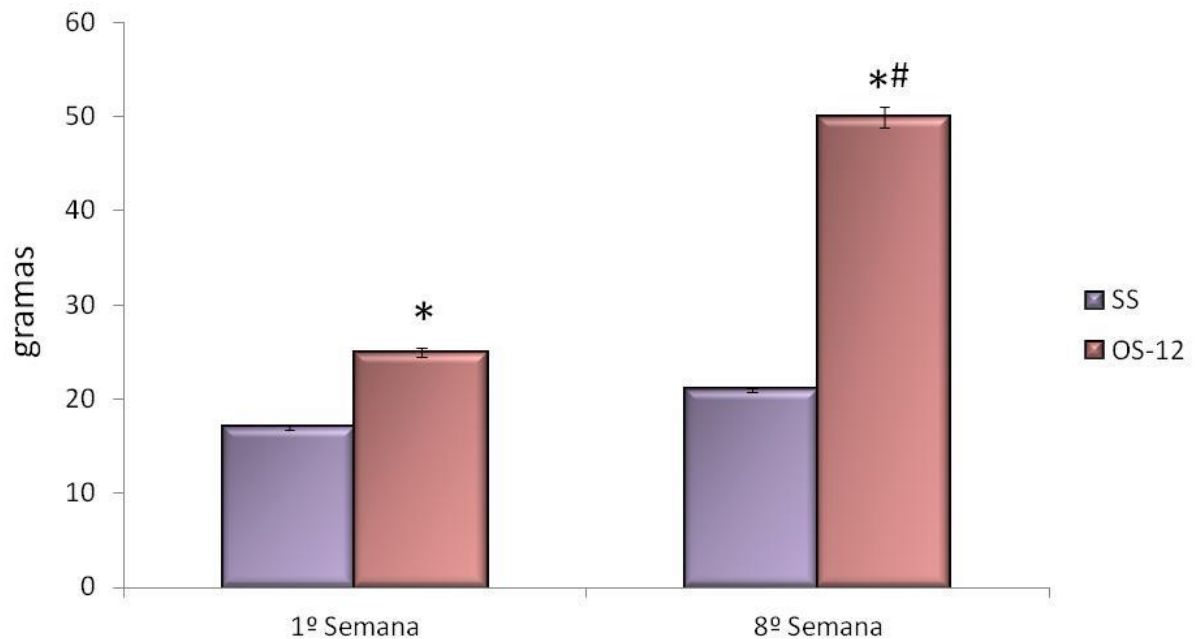


Figura 4. Peso corporal no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo do grupo selvagens sedentárias (SS, n=16) e do grupo ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * $p < 0,05$ vs. SS, # $p < 0,05$ vs. 1ª semana.

6.2. Peso dos Tecidos

O tecido adiposo abdominal foi maior no grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS (Tabela 1, Figura 5).

Tabela 1. Peso dos tecidos dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

	Tecido adiposo abdominal (gramas)	Sóleo (gramas)	Gastrocnêmio (gramas)	Plantar (gramas)
SS	0,4±0,01	0,0061±0,0006	0,077±0,004	0,012±0,0001
OS-12	8,0±0,2*	0,0054±0,0003*	0,080±0,002	0,008±0,0006*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

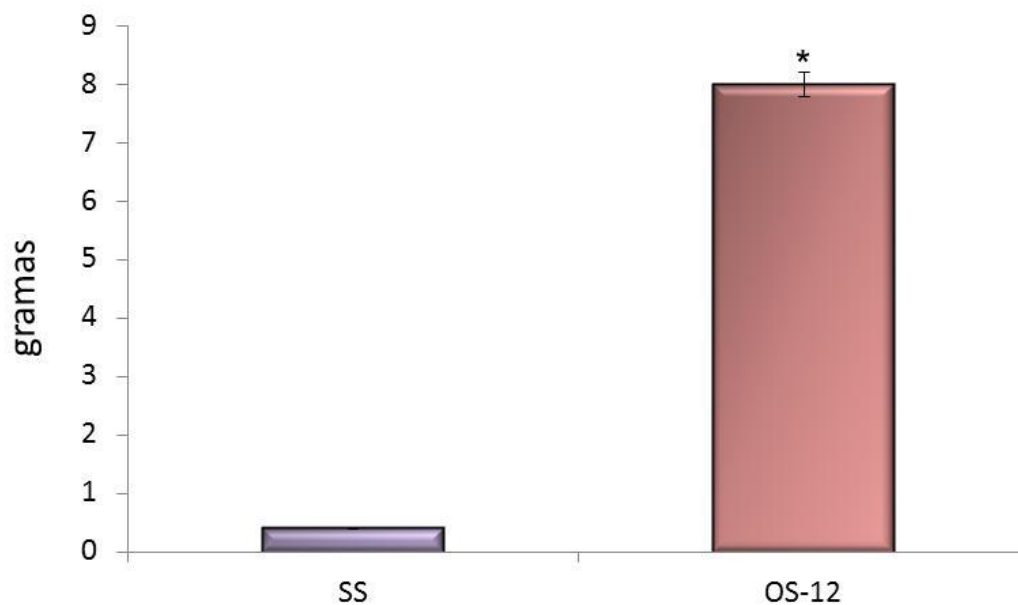


Figura 5. Tecido adiposo abdominal dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * p< 0,05 vs. SS.

O grupo OS-12 apresentou redução do peso do músculo sóleo quando comparado ao grupo SS (Tabela 1, Figura 6).

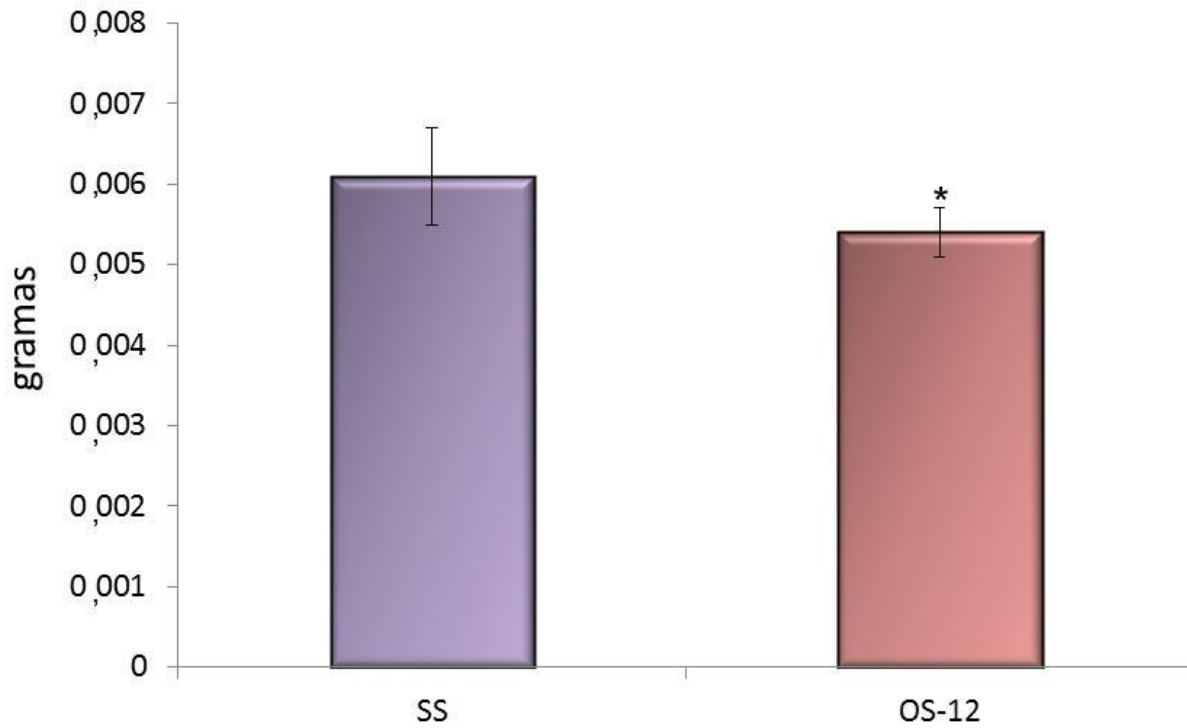


Figura 6. Peso do músculo sóleo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

Não observamos diferenças em relação ao peso do gastrocnêmio entre os grupos estudados. Entretanto, o peso do músculo plantar foi menor no grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS (Tabela 1, Figura 7).

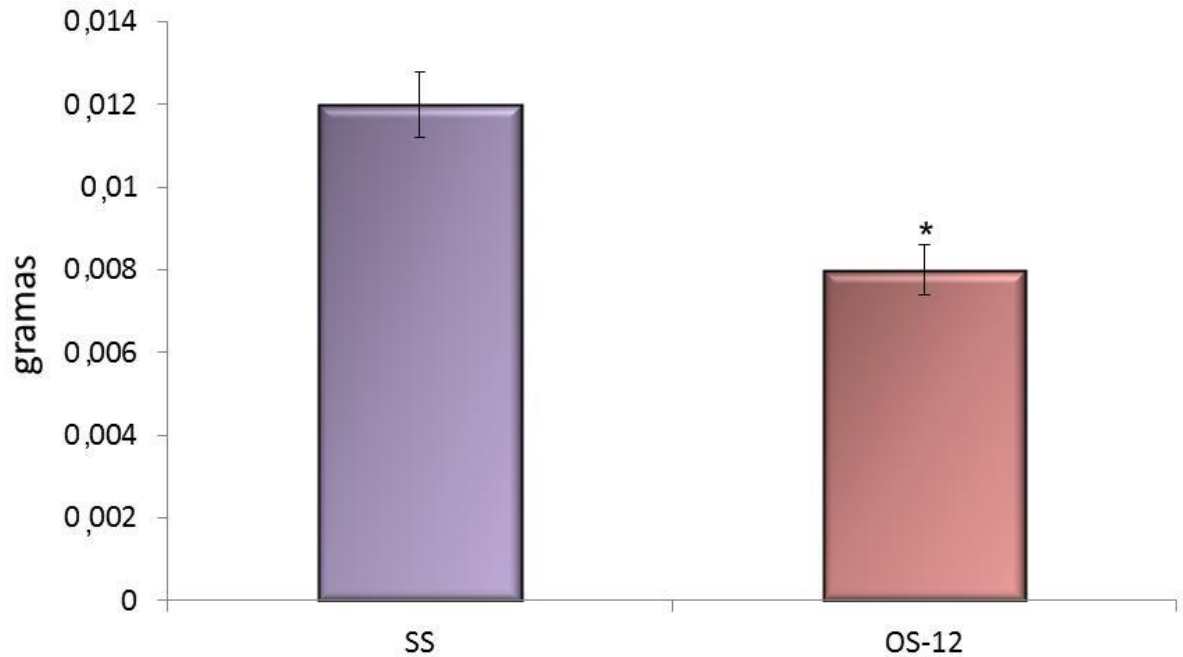


Figura 7. Peso do músculo plantar dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.3. Teste de Esforço em Esteira

No início e ao final do protocolo o grupo ob/ob sedentárias (OS-12: $11 \pm 0,3$ e $8 \pm 0,3$ minutos) apresentou menor tempo de corrida no teste de esforço em esteira quando comparado ao grupo de selvagens sedentárias (SS: $16 \pm 0,3$ e $15 \pm 0,3$ minutos). Adicionalmente, observamos que o grupo OS-12 apresentou redução do tempo de corrida neste teste no final do protocolo quando comparado ao início do protocolo (Figura 8).

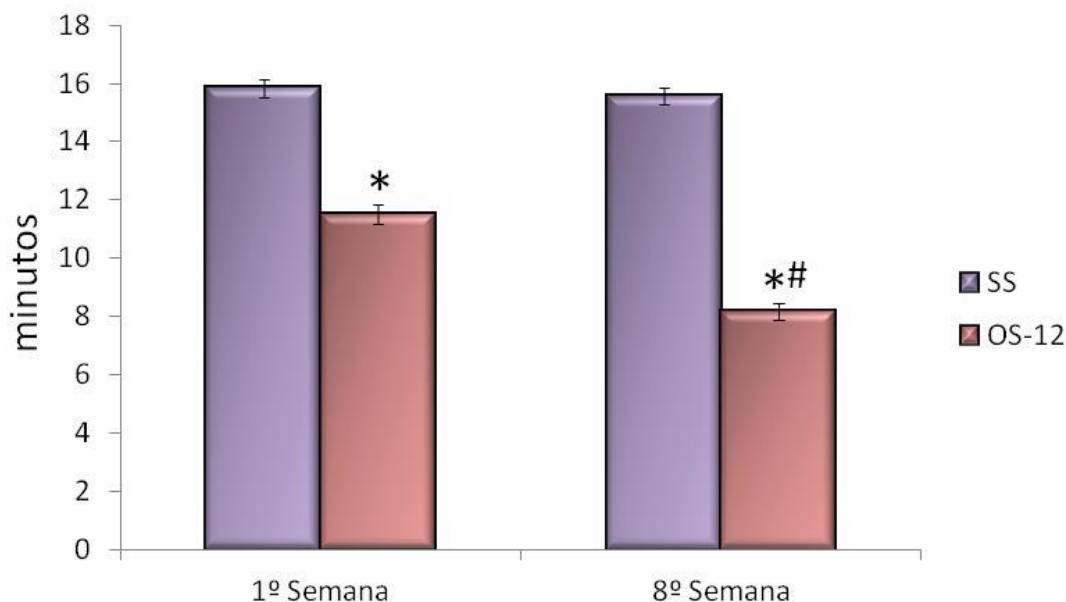


Figura 8. Tempo máximo de corrida no teste de esforço máximo em esteira no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * p< 0,05 vs. SS, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.4. Teste de Carga Máxima em Escada

No início do protocolo, observamos que o grupo ob/ob sedentárias (OS-12: 132±2 % do peso corporal) apresentou pior desempenho no teste de força máxima em escada quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS: 222±2 % do peso corporal).

De forma semelhante, após as 8 semanas de protocolo, o grupo de camundongos ob/ob sedentárias permaneceu com pior desempenho no teste de carga máxima quando comparados ao grupo de selvagens sedentárias (SS: 241±2 vs. OS-12: 87±1 % do peso corporal). Adicionalmente, o grupo OS-12 apresentou redução da força máxima no teste em escada no final do protocolo quando comparado a ele mesmo no início do protocolo (Figura 9).

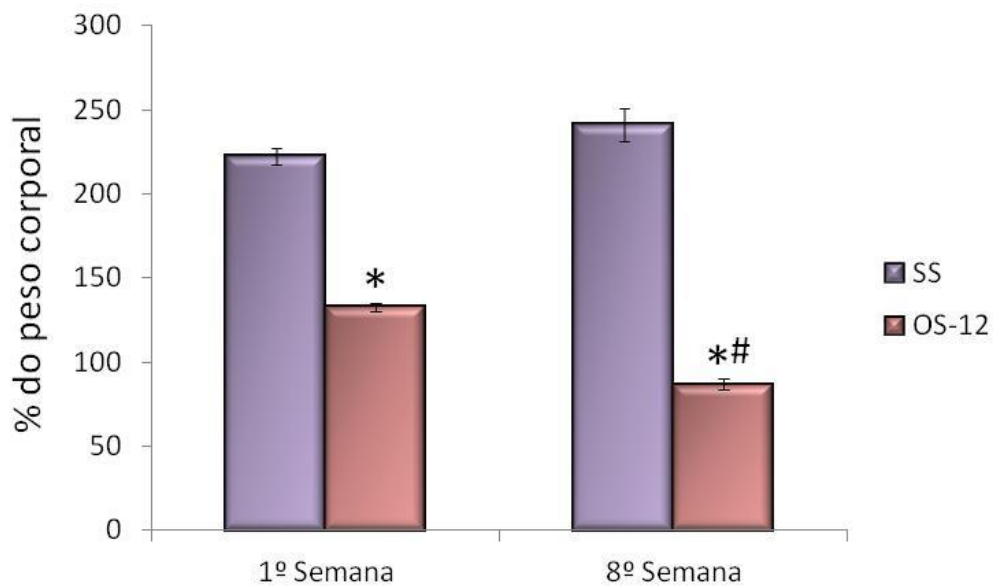


Figura 9. Peso máximo alcançado no teste de carga máxima em escada normalizado pelo peso corporal no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * p < 0,05 vs. SS, # p < 0,05 vs. 1ª semana.

6.5. Glicemia

No início e ao final do protocolo, a glicemia foi maior no grupo OS-12 (165 ± 4 e 180 ± 10 mg/dl) quando comparada ao grupo SS (125 ± 8 e 121 ± 6 mg/dl). Adicionalmente, o grupo ob/ob sedentárias apresentou aumento da glicemia ao final do protocolo quando comparado ao início do protocolo (Figura 10).

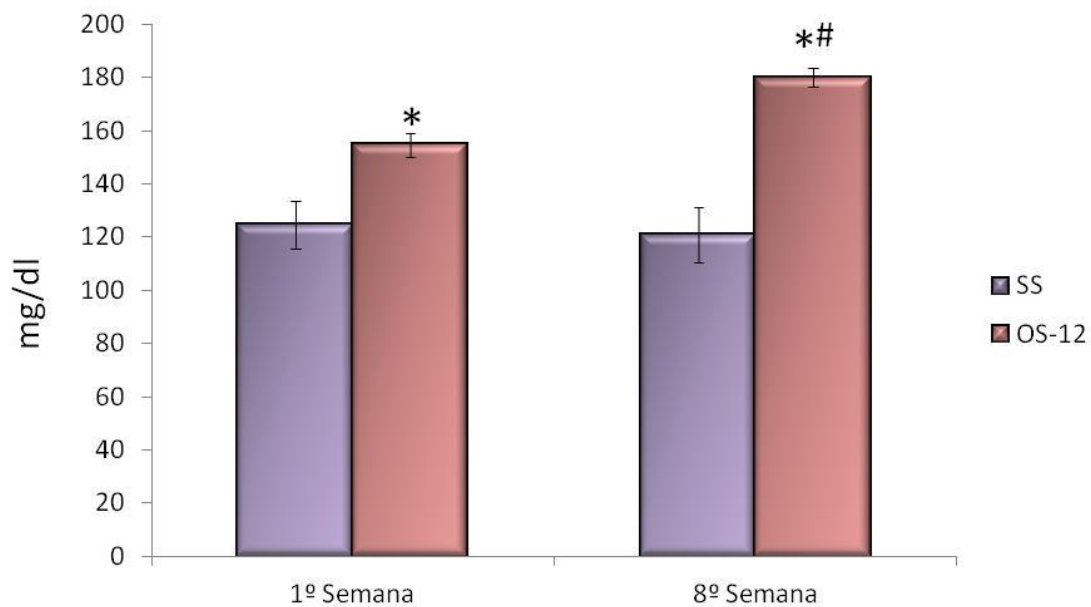


Figura 10. Glicemia no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * p< 0,05 vs. SS, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.6. Triglicérides Sanguíneos

No final do protocolo (8ª semana) observamos aumento dos triglicérides sanguíneos no grupo obesas sedentárias (OS-12: 142±6 mg/dl) em relação ao grupo selvagens sedentárias (SS: 107±13 mg/dl) (Figura 11).

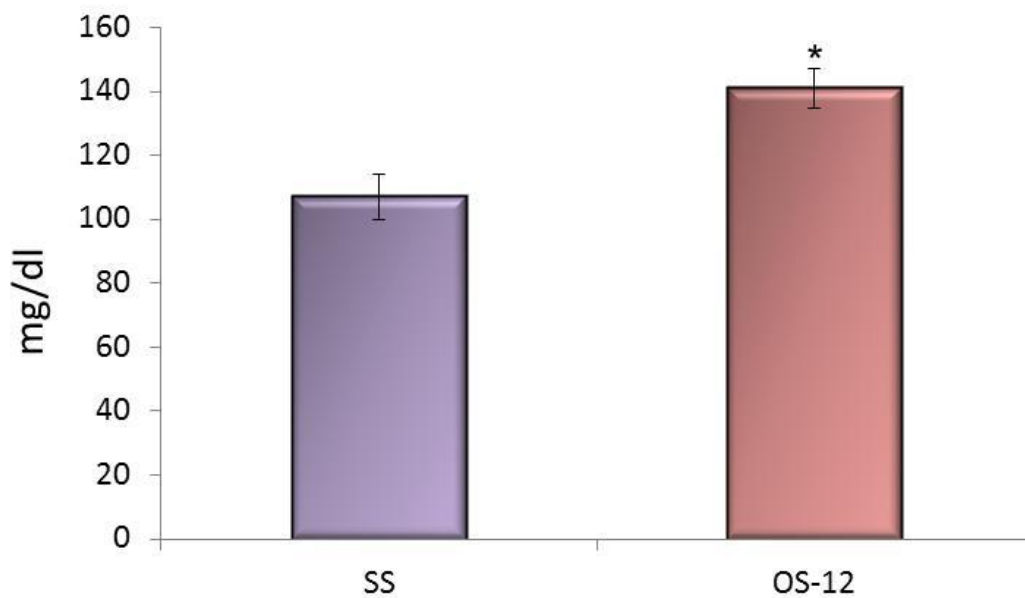


Figura 11. Triglicérides sanguíneos ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * $p < 0,05$ vs. SS

6.7. Colesterol Total Sanguíneo

Não observamos diferenças no final do protocolo (8ª semana) em relação ao colesterol sanguíneo no grupo selvagens sedentárias (SS: 162 ± 2 mg/dl) quando comparado ao grupo obesas sedentárias (OS-12: 167 ± 3 mg/dl) (Figura 12).

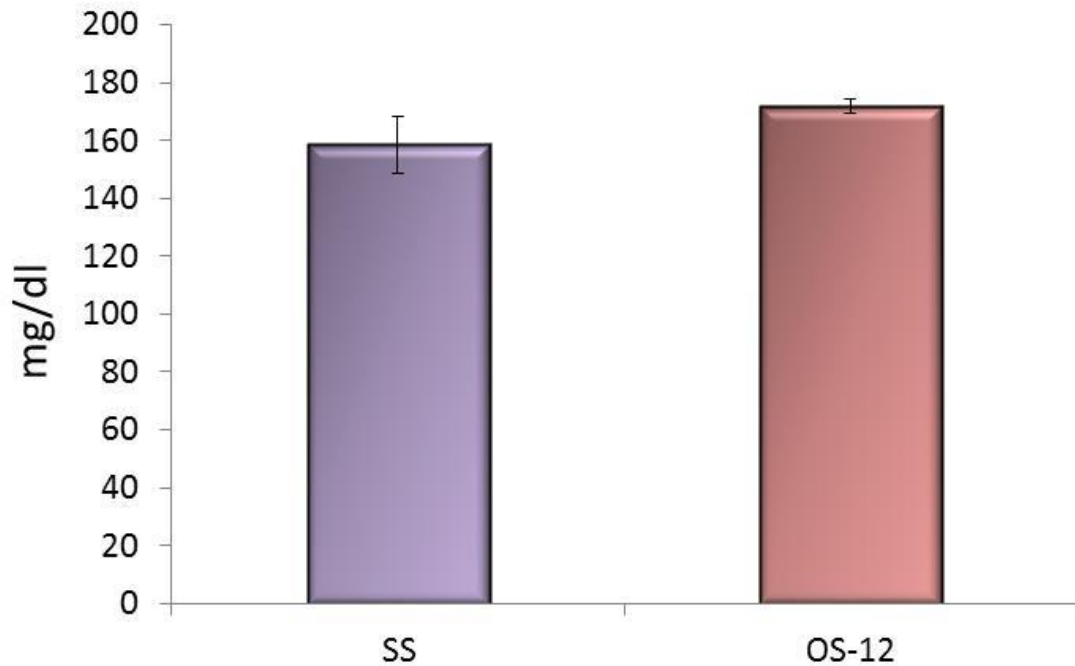


Figura 12. Colesterol sanguíneo ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

6.8. Teste de Tolerância à Glicose (GTT)

Em relação ao teste de tolerância à glicose, o grupo obesas sedentárias (OS-12: 38491 ± 1272 mg/dl/min) apresentou aumento da intolerância a glicose (maior área sobre a curva) comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS: 15424 ± 3351 mg/dl/min) (Figura 13).

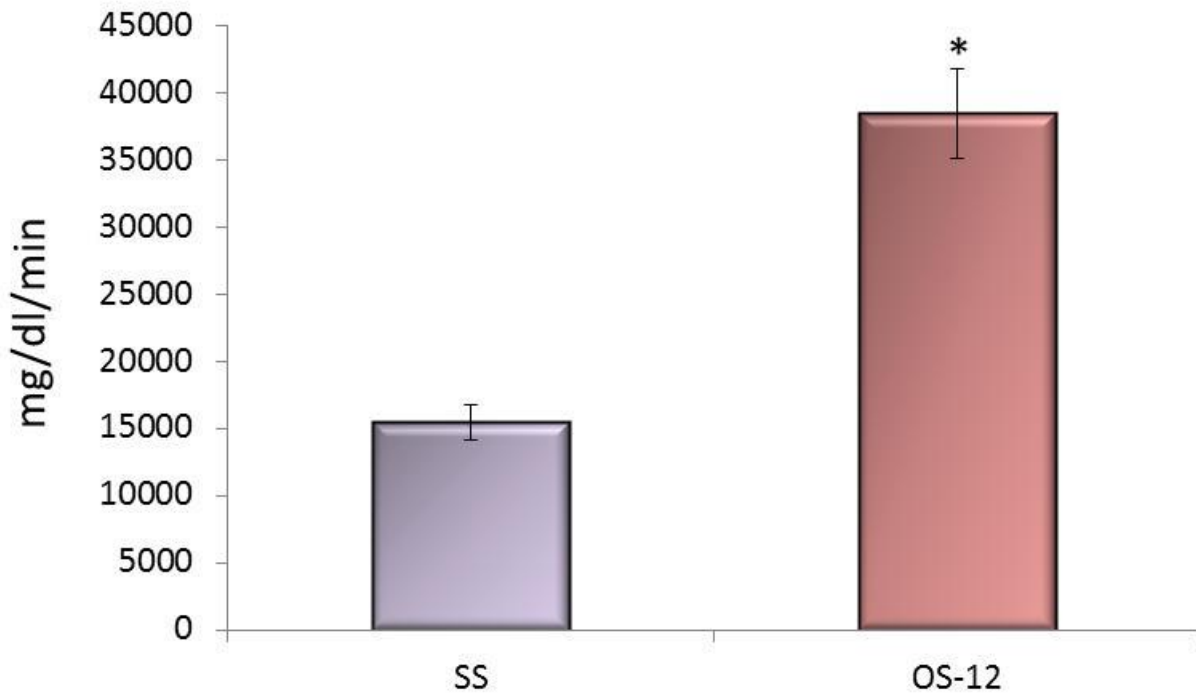


Figura 13. Teste de tolerância à glicose (área sobre a curva) ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.9. Avaliações Hemodinâmicas

6.9.1. Pletismografia de Cauda

Não foram observadas diferenças em relação à PAS, PAM e PAD entre os grupos em todos os momentos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2. Pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) obtidas de forma indireta na 1º, 4º e 8º semanas de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

		SS	OS-12
PAS (mmHg)	1º SEMANA	112±3	105±3
	4º SEMANA	110±2	114±3
	8º SEMANA	110±2	110±4
PAM (mmHg)	1º SEMANA	86±4	81±5
	4º SEMANA	86±2	83±4
	8º SEMANA	83±2	85±3
PAD (mmHg)	1º SEMANA	73±3	67±2
	4º SEMANA	73±2	70±5
	8º SEMANA	73±2	72±3

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

6.9.2. Registro Direto de Pressão Arterial

Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação à pressão arterial sistólica, diastólica e média e em relação à frequência cardíaca analisadas de forma direta (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta na 8ª semana de protocolo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
SS	132 ± 2	96 ± 2	114 ± 2	562 ± 14
OS-12	129 ± 4	97 ± 3	114 ± 4	564 ± 20

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM).

6.10. Sensibilidade barorreflexa

Observamos redução da sensibilidade barorreflexa tanto para as respostas taquicárdicas (SS: 5±0,7 vs. OS12: 3±0,5 bpm/mmHg) quanto para as respostas bradicárdicas (SS: 6±0,6 vs. OS-12: 3,5±0,7 bpm/mmHg) no grupo ob/ob sedentárias (OS-12) quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS) (Figura 14).

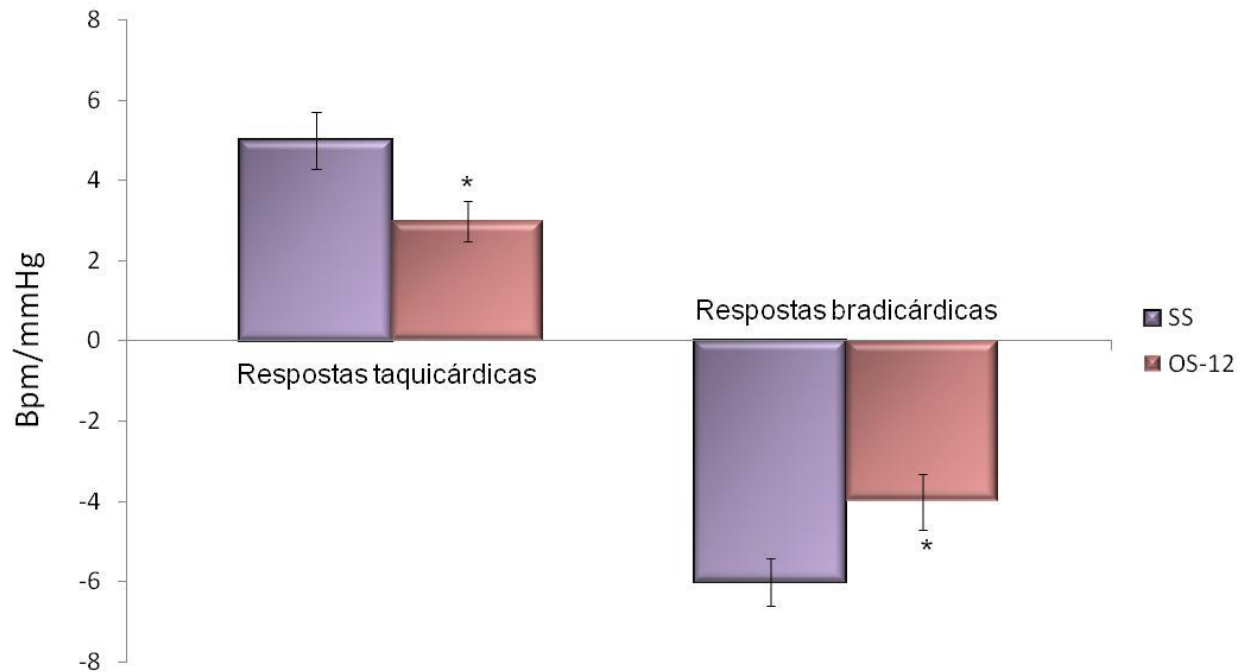


Figura 14. Sensibilidade barorreflexa dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

*p< 0,05 vs. SS.

6.11. Variabilidade da Frequência Cardíaca

Em relação ao RMSSD (raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos), observou-se diminuição no grupo ob/ob (OS-12) quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS) (Figura 15, Tabela 4). O grupo ob/ob sedentárias (OS-12) apresentou diminuição da variância do intervalo de pulso (VAR-IP) quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS) (Figura 16, Tabela 4).

Tabela 4. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

	RMSSD	VAR – IP	BF	AF	%BF	%AF	BF/AF
	(ms)	(ms ²)	(ms ²)	(ms ²)	(n.u.)	(n.u.)	
SS	12±1,3	178±19	135±26	43±6	66±4	34±4	2,5±0,3
OS-12	6±0,9*	33±4 *	7±2 *	13±2*	38±4 *	62±4*	0,7±0,1 *

Valores representando média ± erro padrão. Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos (RMSSD), variância do intervalo de pulso (VAR-IP), baixa frequência (BF), alta frequência (AF) e balanço simpato/vagal (BF/HF). * p< 0,05 vs. SS.

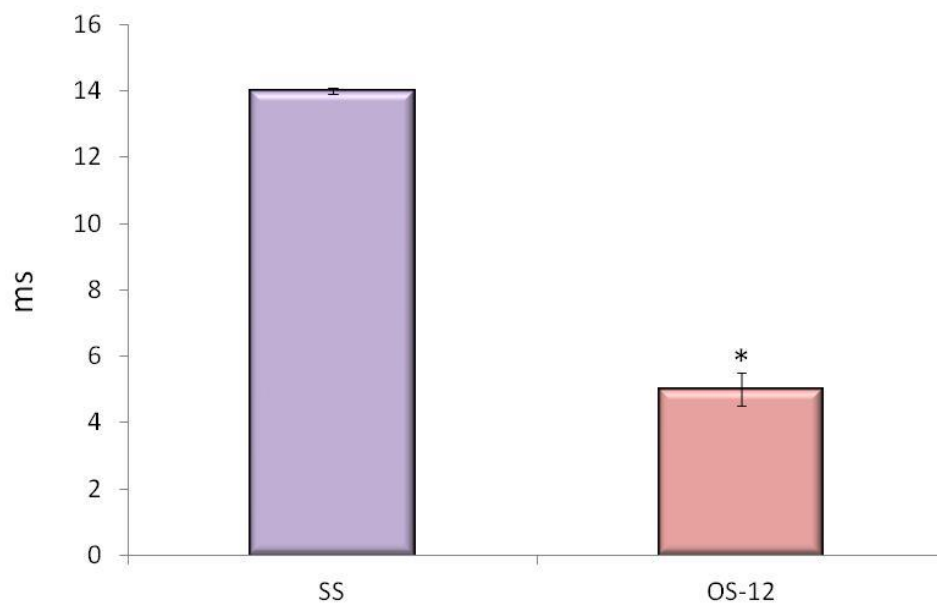


Figura 15. RMSSD ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

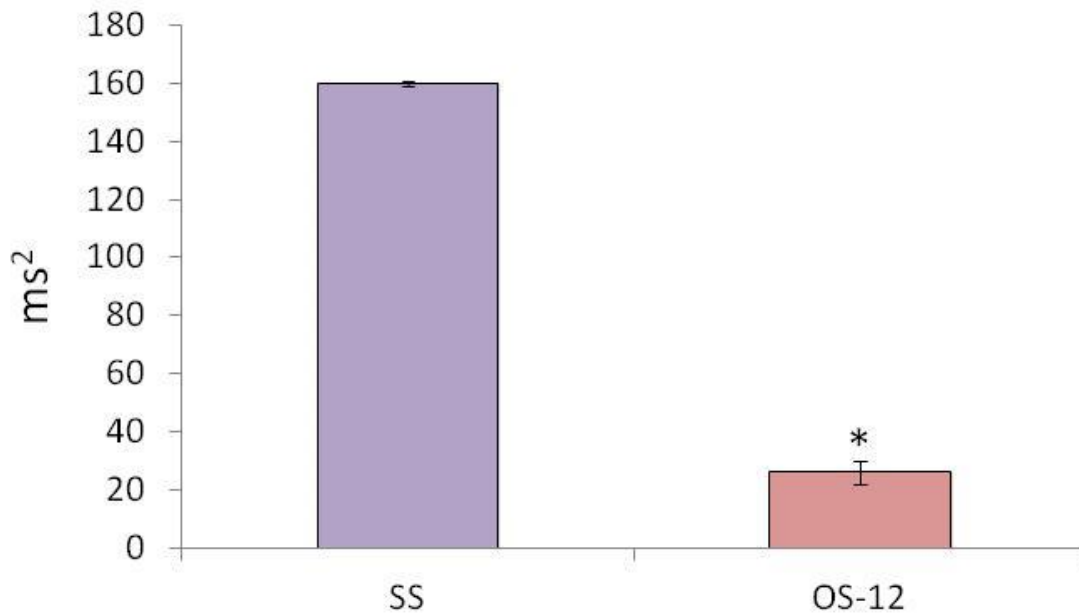


Figura 16. Variância do intervalo de pulso ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

Em relação às análises da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência, observou-se diminuição dos valores absolutos das bandas de baixa e alta frequência no grupo ob/ob sedentárias (OS-12) quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS) (Tabela 4).

Nos valores normalizados, o grupo ob/ob sedentárias apresentou menor modulação simpática, representada por menor %BF e BF/AF (Figura 17) e maior %AF em relação ao grupo selvagens sedentárias (Tabela 5).

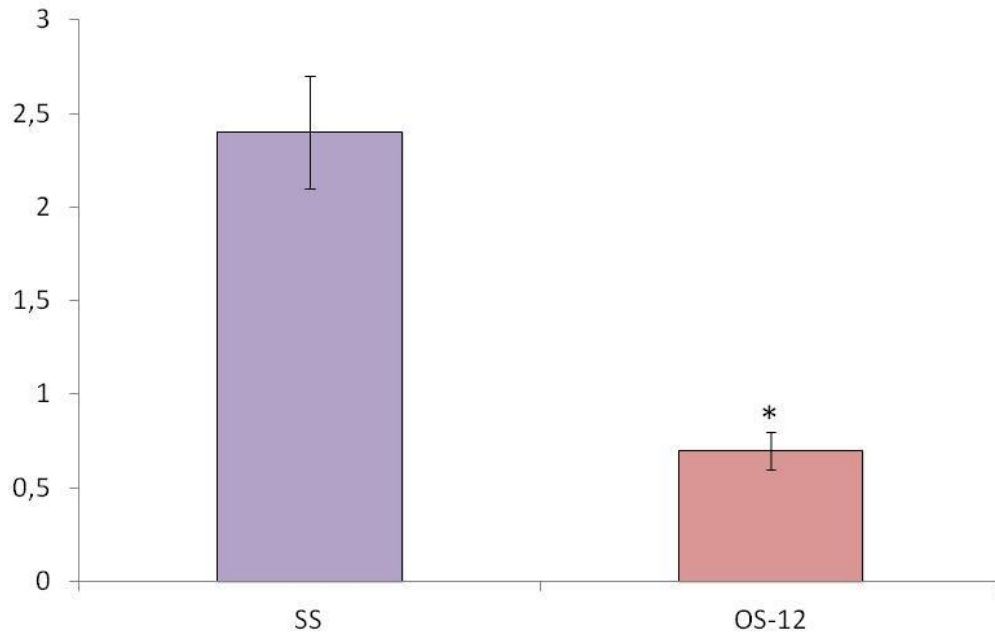


Figura 17. Balanço simpato/vagal ao final do protocolo (8^o semana) dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.12. Variabilidade da Pressão Arterial

Não observamos diferença entre os grupos em relação à variabilidade da pressão arterial sistólica (VAR-PAS). Além disso, a banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica (LF-PAS) também foi semelhante entre os grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12) (Tabela 5).

Tabela 5. Variabilidade da pressão arterial dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=16) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=16).

	VAR – PAS (mmHg ²)	BF – PAS (mmHg ²)
SS	20±3	9±1
OS-12	24±3	10±1

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (VAR-PAS), baixa frequência da pressão arterial sistólica (BF-PAS). * p< 0,05 vs. SS.

6.13. Catecolaminas em Tecido Adiposo

Não foram observadas diferenças em relação às catecolaminas entre os grupos SS e OS-12 (Tabela 6).

Tabela 6. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Noroadrenalina (ng/g)	Adrenalina (ng/g)	L-Dopa (ng/g)	Dopamina (ng/g)
SS	2273±755	446±166	2044±402	1513±272
OS-12	1102±219	453±40	1894±168	1718±211

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

6.14. Angiotensinas

6.14.1. Tecido Adiposo

Não observamos diferença em relação os níveis de angiotensina 2 e angiotensina 1-7 entre os grupos selvagem sedentárias e o grupo obesas sedentárias. (Tabela 7).

Tabela 7. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo nos grupos (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
SS	168±24	368±17
OS-12	161±17	357±12

Valores representando média ± erro padrão.

6.14.2. Rim

Em relação às angiotensinas dosadas no rim, observamos diminuição da angiotensina 1 -7 (Figura 18) no grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS. Adicionalmente, observamos aumento da angiotensina 2 (Figura 19) no grupo OS-12 comparado ao grupo SS (Tabela 8).

Tabela 8. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim nos grupos (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
SS	260±22	287±14
OS-12	230±23*	321±24*

Valores representando média ± erro padrão.

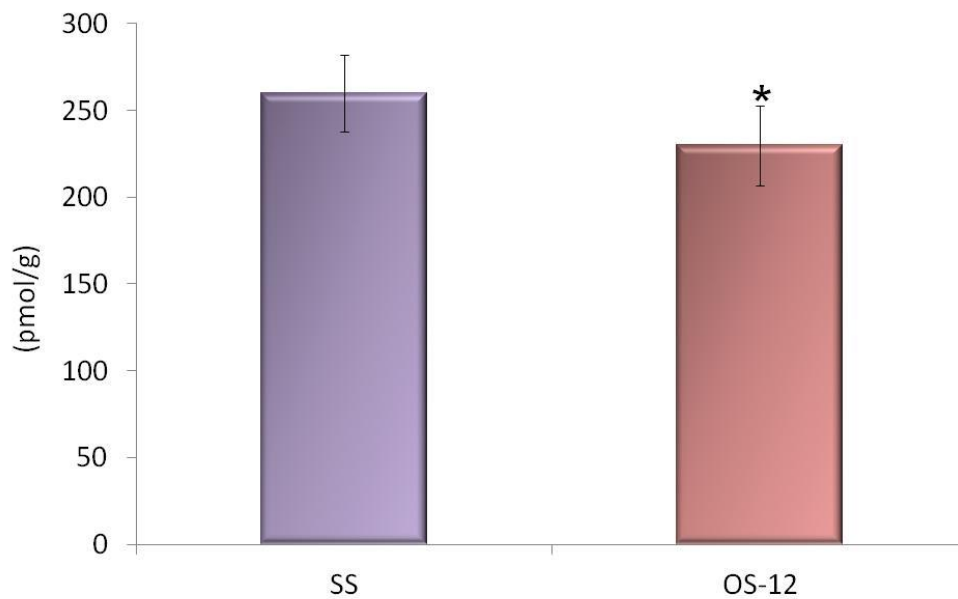


Figura 18. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * p< 0,05 vs. SS.

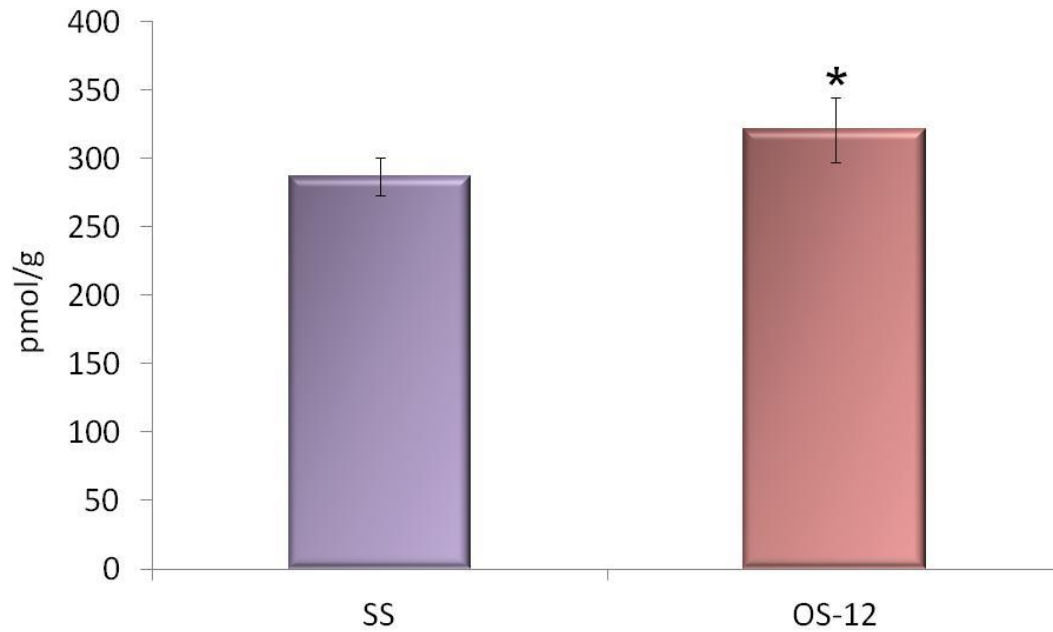


Figura 19. Angiotensina 2 no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.14.3. Ventrículo Esquerdo

No ventrículo esquerdo, observamos que o grupo OS-12 apresentou aumento da angiotensina 1-7 (Figura 20) quando comparado ao grupo SS. Adicionalmente, o grupo OS-12 apresentou aumento da angiotensina 2 (Figura 21) comparado ao grupo SS (Tabela 9).

Tabela 9. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo nos grupos (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
SS	190±17	207±20
OS-12	232±14*	294±10*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

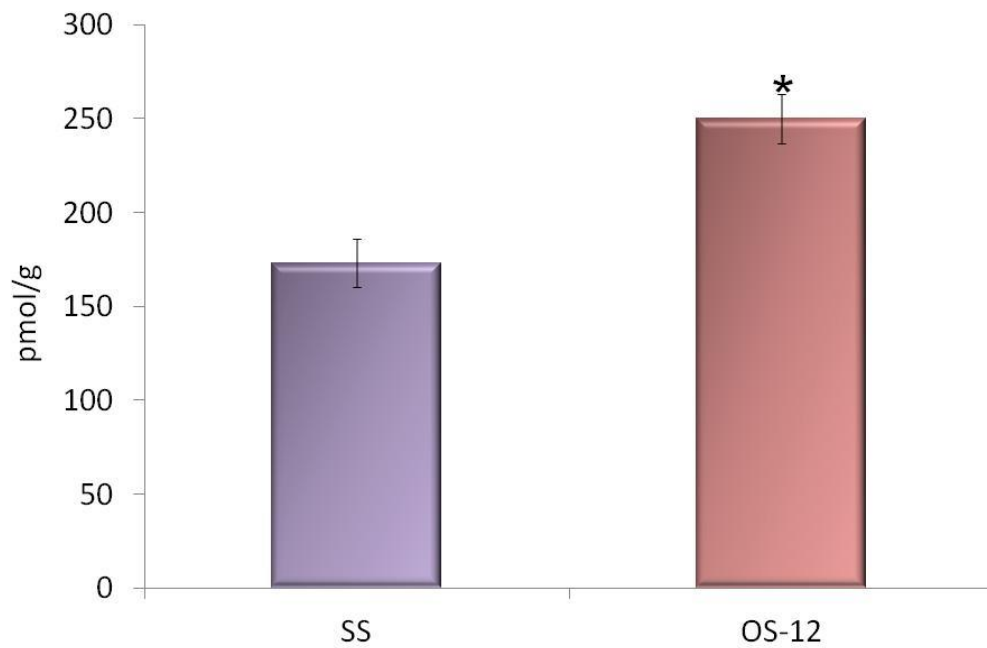


Figura 20. Angiotensina 1-7 no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12).

* p< 0,05 vs. SS.

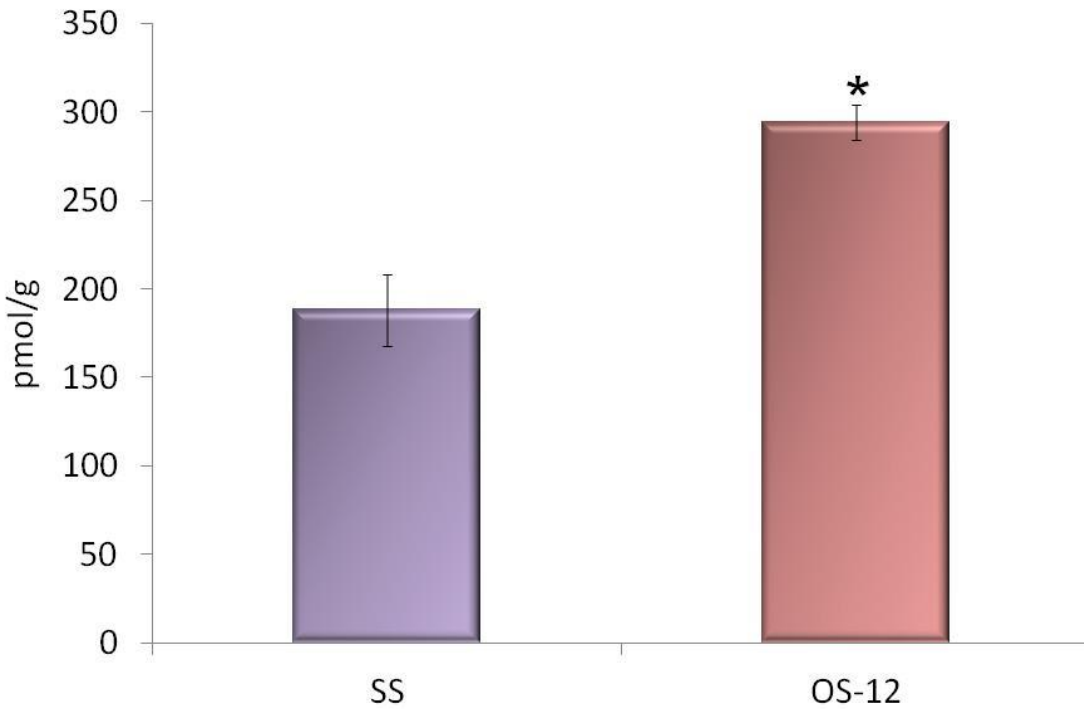


Figura 21. Angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.15. Adiponectina e Marcadores Inflamatórios

6.15.1. Tecido adiposo abdominal

O grupo ob/ob sedentário (OS-12) (140443 ± 4472 pg/ml) apresentou menores valores de adiponectina quando comparado ao grupo selvagem sedentária (SS) (161175 ± 2840 pg/ml) (Figura 22).

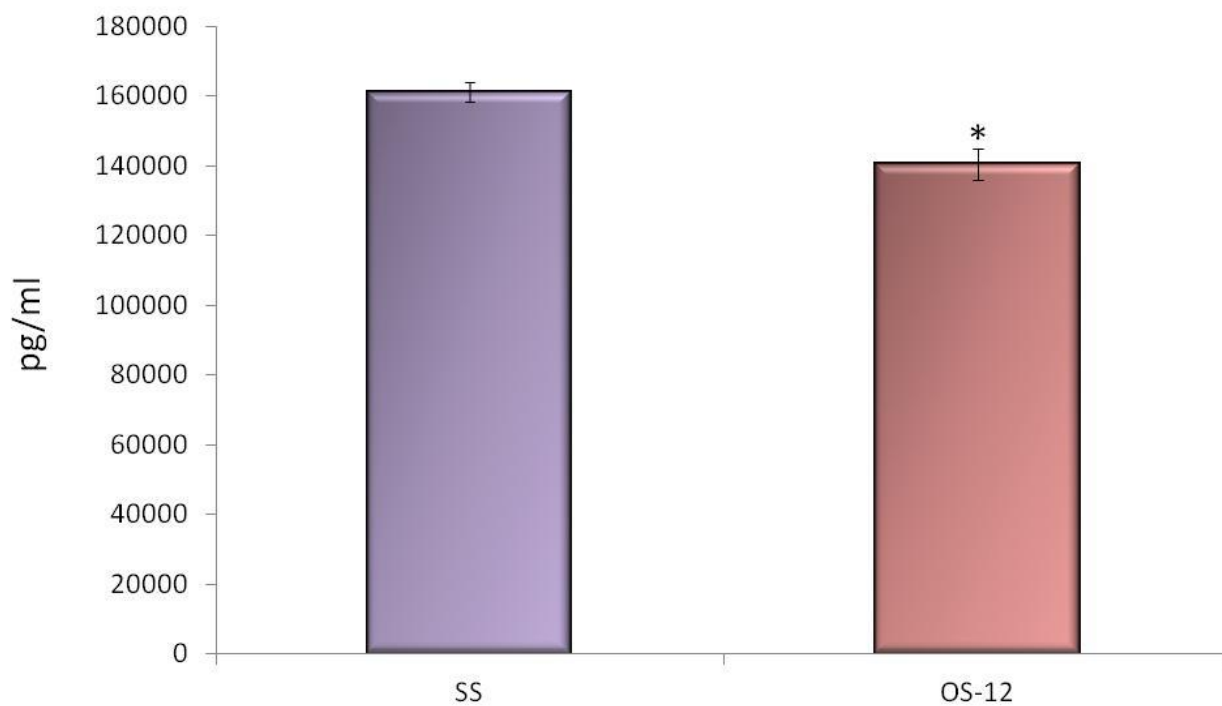


Figura 22. Adiponectina no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

Em relação a IL-6, não observamos diferença entre os grupos estudados no tecido adiposo (Tabela 10).

Observamos um aumento do PAI-1 no tecido adiposo no grupo ob/ob sedentário em comparação ao grupo selvagem sedentário (Tabela 10, Figura 23).

Tabela 10. IL-6 e PAI-1 no tecido adiposo abdominal dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	IL-6 (pg/ml)	PAI-1 (pg/ml)
SS	154±7	1353±211
OS-12	141±16	4616±710*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

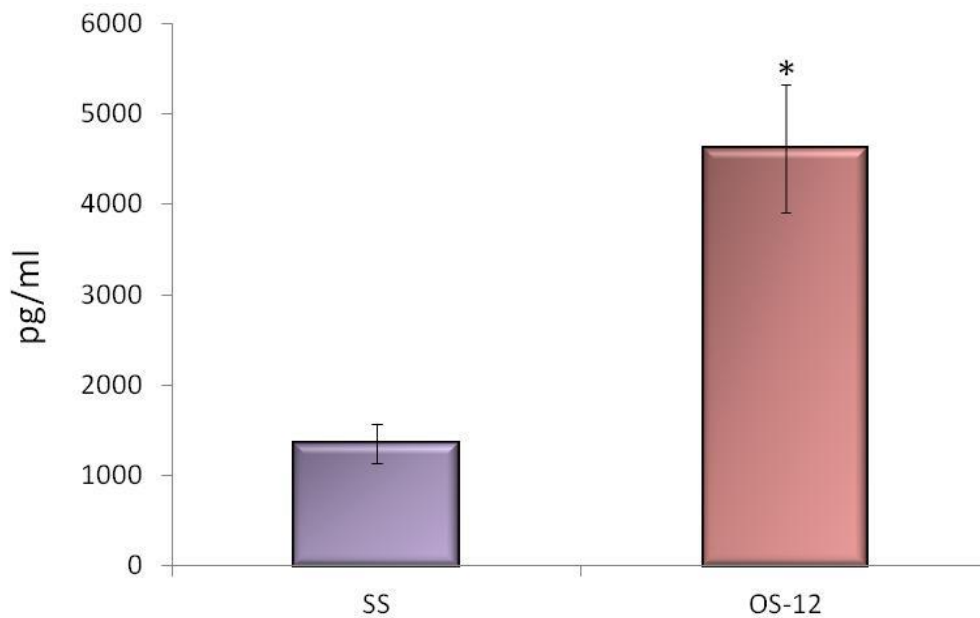


Figura 23. PAI - 1 no tecido adiposo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * p< 0,05 vs. SS.

6.15.2. Baço

A adiponectina no baço foi menor no grupo ob/ob sedentária (OS-12) (11538 ± 867 pg/ml) quando comparado ao grupo selvagem sedentária (SS) (16641 ± 2539 pg/ml) (Figura 24).

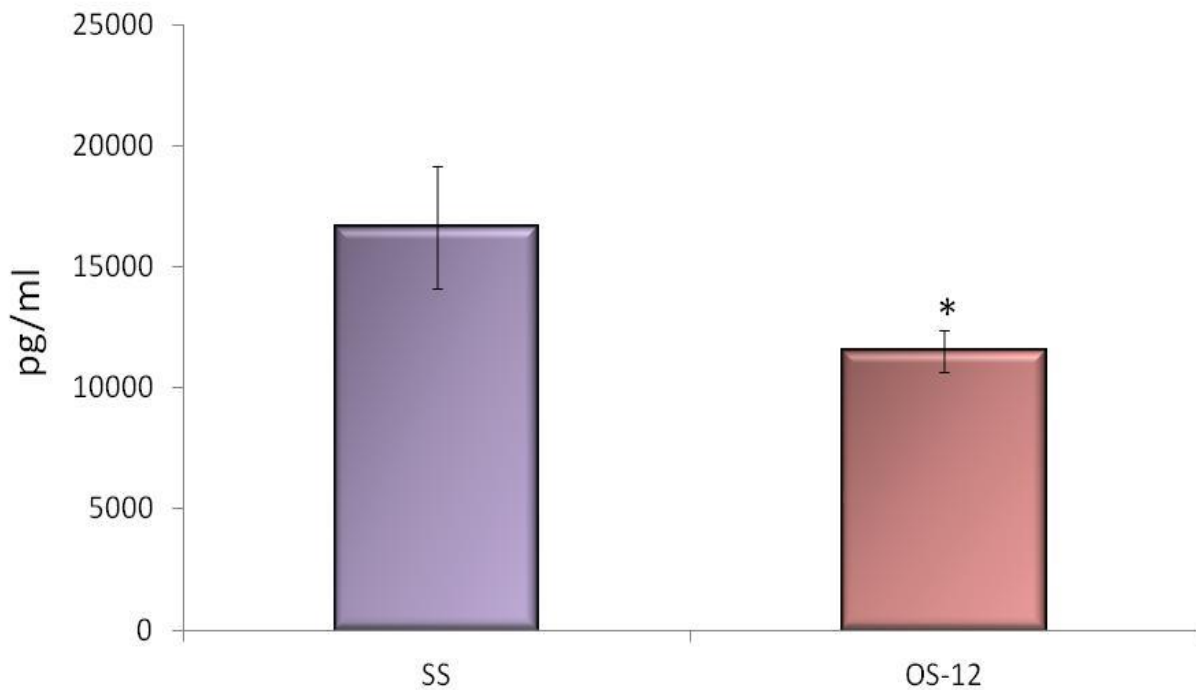


Figura 24. Adiponectina no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

Observamos aumento do TNF alfa no grupo ob/ob sedentárias quando comparadas ao grupo selvagens sedentárias (Tabela 11, Figura 25). Além disto, o grupo obeso sedentário apresentou aumento da IL-6 em comparação ao grupo selvagem sedentária no baço (Tabela 11, Figura 26). Em relação ao PAI-1, observamos aumento no grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS no baço (Tabela 11, Figura 27).

Tabela 11. TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=6) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=6).

	TNF alfa (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	PAI-1 (pg/ml)
SS	70±5	148±15	1577±407
OS-12	96±4*	380±52 *	3706±723 *

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

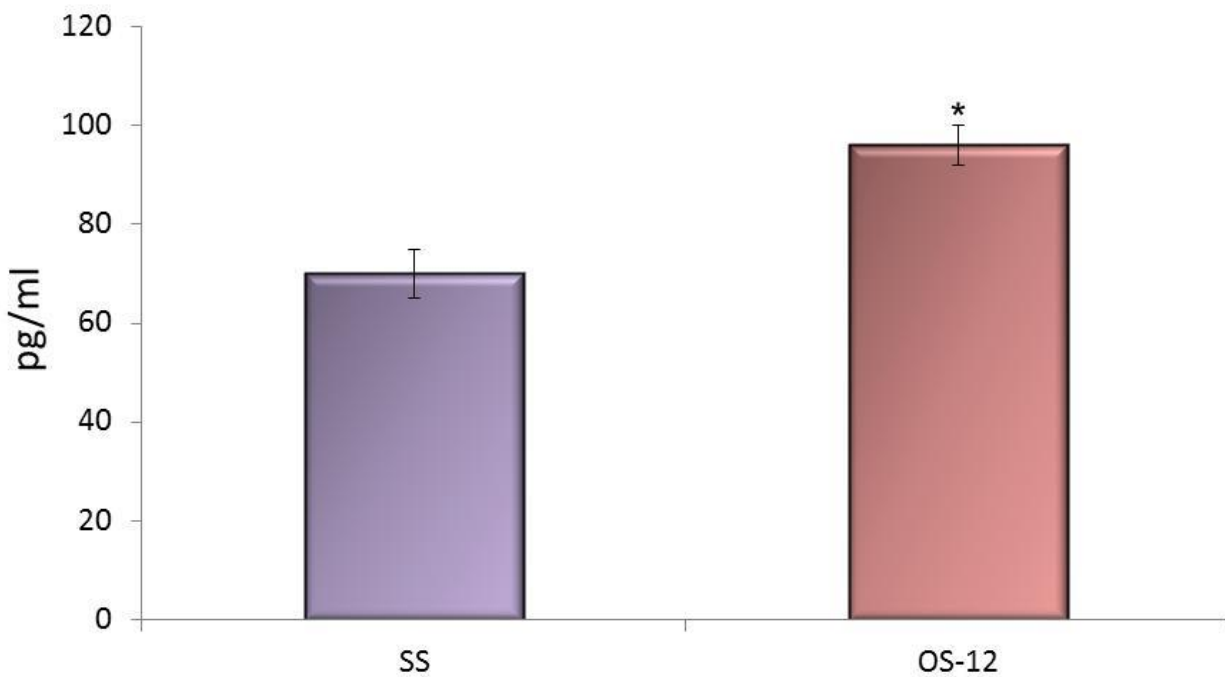


Figura 25. TNF alfa no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * p< 0,05 vs. SS.

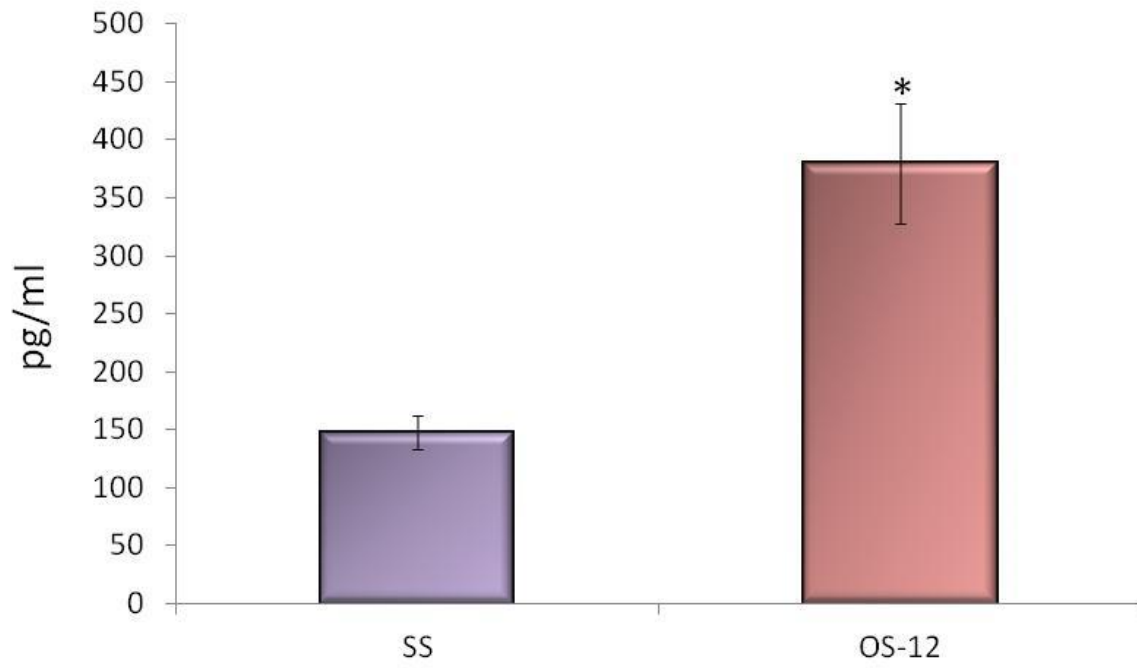


Figura 26. IL-6 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

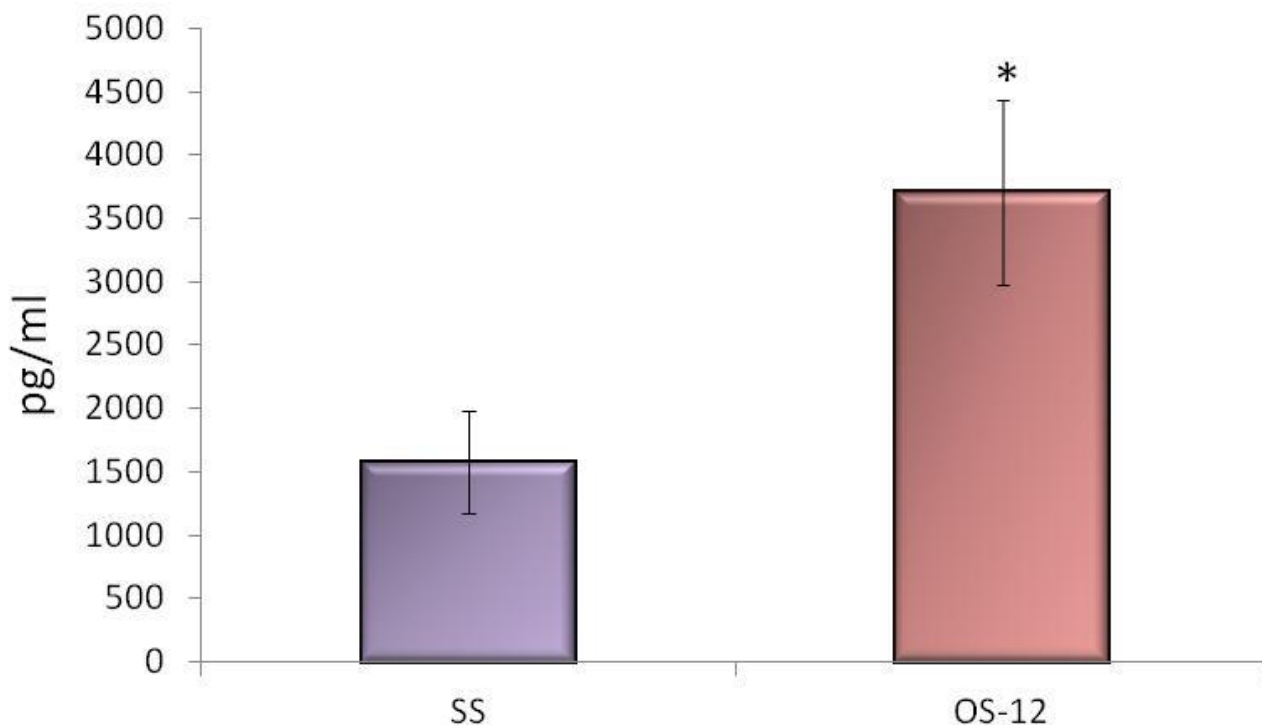


Figura 27. PAI-1 no baço dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.16. Estresse Oxidativo

6.16.1 Rim

Com relação ao estresse oxidativo, a avaliação de proteínas oxidadas (carbonilas) evidenciou aumento no grupo obesas sedentárias (OS-12) quando comparado ao grupo de selvagens sedentárias (SS) (Tabela 12, Figura 28). Adicionalmente, a lipoperoxidação (TBARS) foi maior no grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS (Tabela 12, Figura 29).

Não observamos diferença em relação à SOD entre os grupos SS e OS-12 (Tabela 12). O grupo obeso sedentário (OS-12) apresentou redução da CAT quando comparado ao grupo selvagem

sedentário (SS) (Tabela 12, Figura 30). Em relação à GPx, observamos diminuição no grupo obesas sedentárias (OS-12) quando comparado ao grupo selvagens sedentárias (SS) (Tabela 12, Figura 31).

Tabela 12. Parâmetro de estresse oxidativo no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Carbonilas (nmol/mg proteína)	TBARS (umoles/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)	GPx (umol/min/mg proteína)
SS	4,8±0,7	8,8±1,2	19±1	3,5±0,3	0,162±0,020
OS-12	6,4±0,5*	11,0±0,8*	18±1	2,4±0,2*	0,067±0,005*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

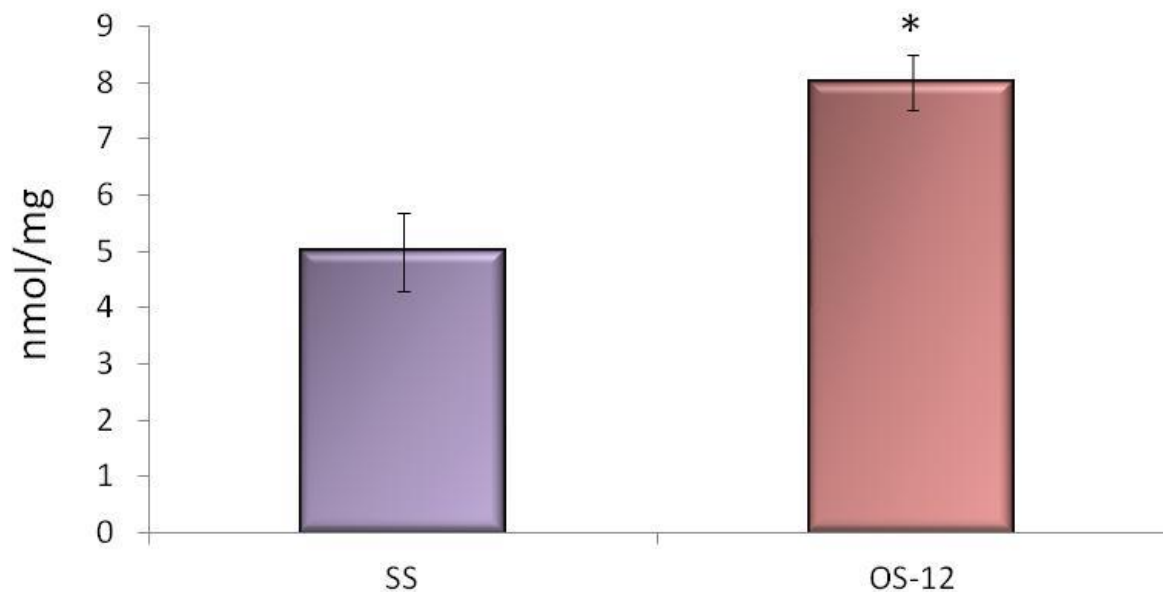


Figura 28. Proteínas carboniladas no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * p< 0,05 vs. SS.

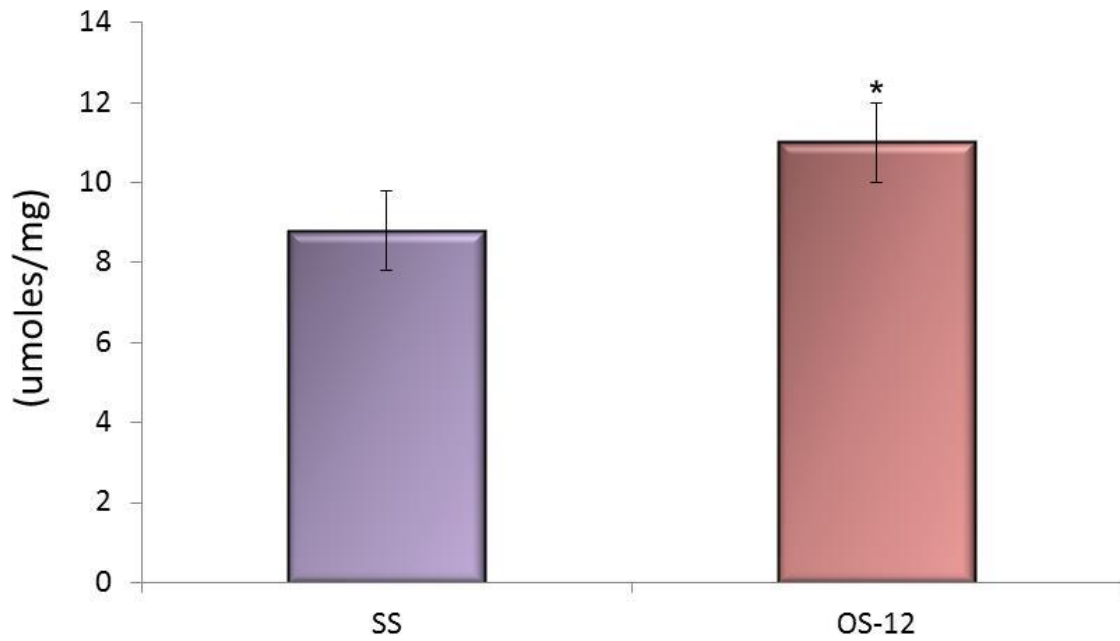


Figura 29. TBARS no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

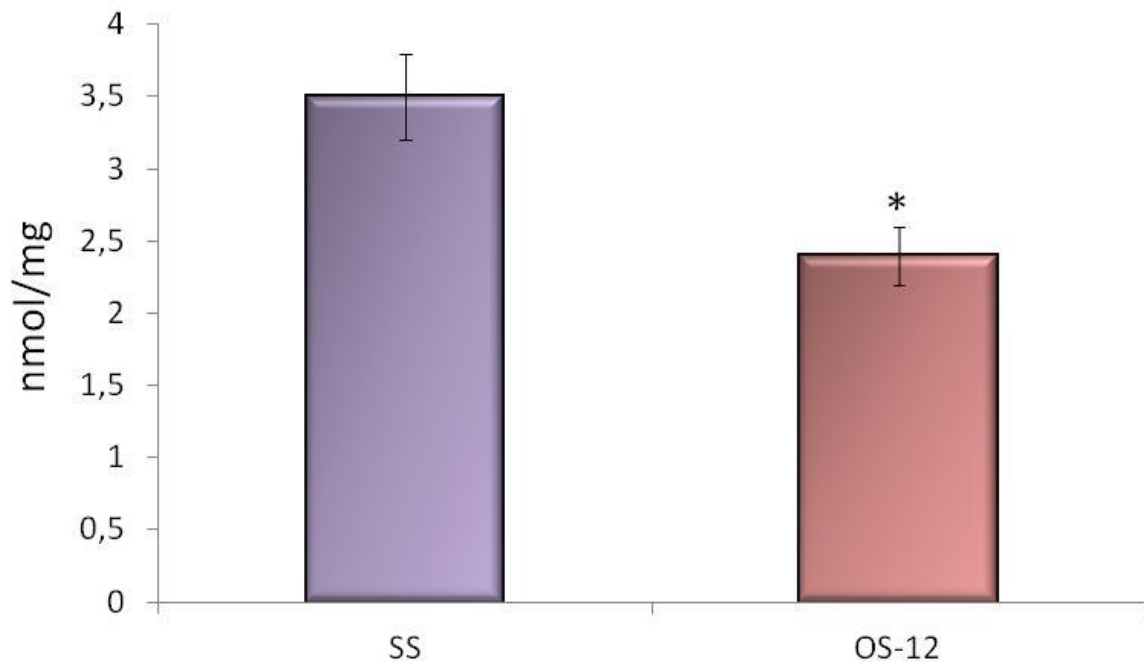


Figura 30. Catalase no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

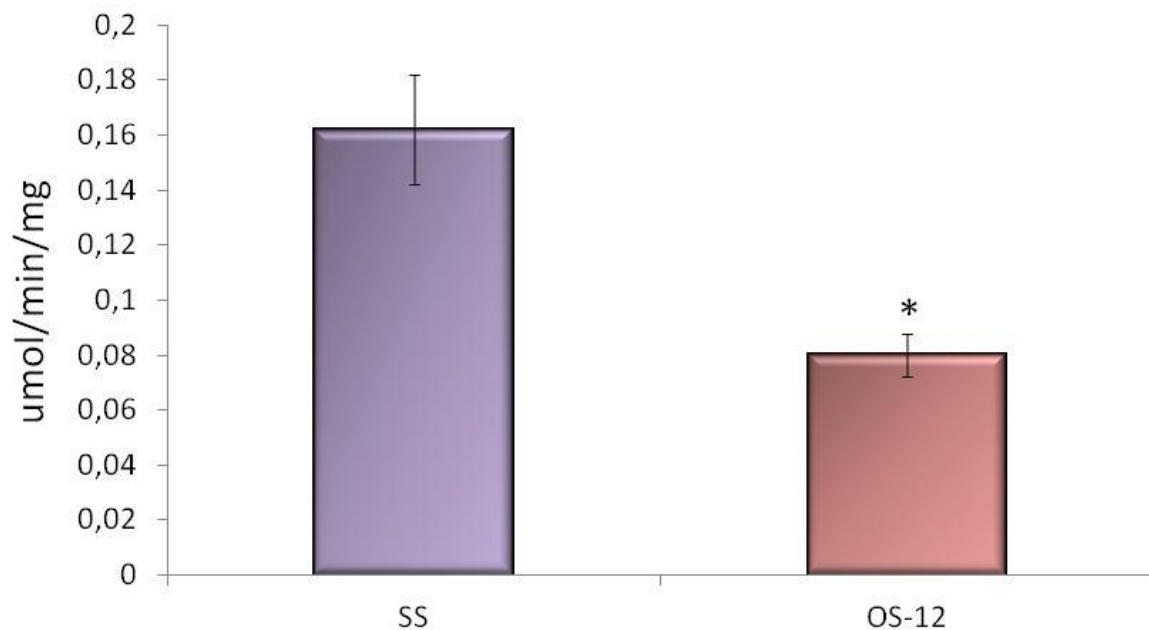


Figura 31. GPx no rim dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). * $p < 0,05$ vs. SS.

6.16.2. Ventrículo Esquerdo

As proteínas oxidadas (carbonilas) e a lipoperoxidação (TBARS) estavam aumentados no ventrículo esquerdo do grupo OS-12 quando comparado ao grupo SS (Tabela 13, Figura 32).

Em relação às enzimas antioxidantes SOD e CAT não observamos diferença entre os grupos estudados (Tabela 13).

Tabela 13. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS, n=8) e ob/ob sedentárias (OS-12, n=8).

	Carbonilas (nmol/mg proteína)	TBARS (umoles/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)
SS	3,2±0,2	4,3±0,6	10±1	0,3±0,02
OS-12	4,3±0,4*	5,7±0,3*	10±1	0,3±0,03

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

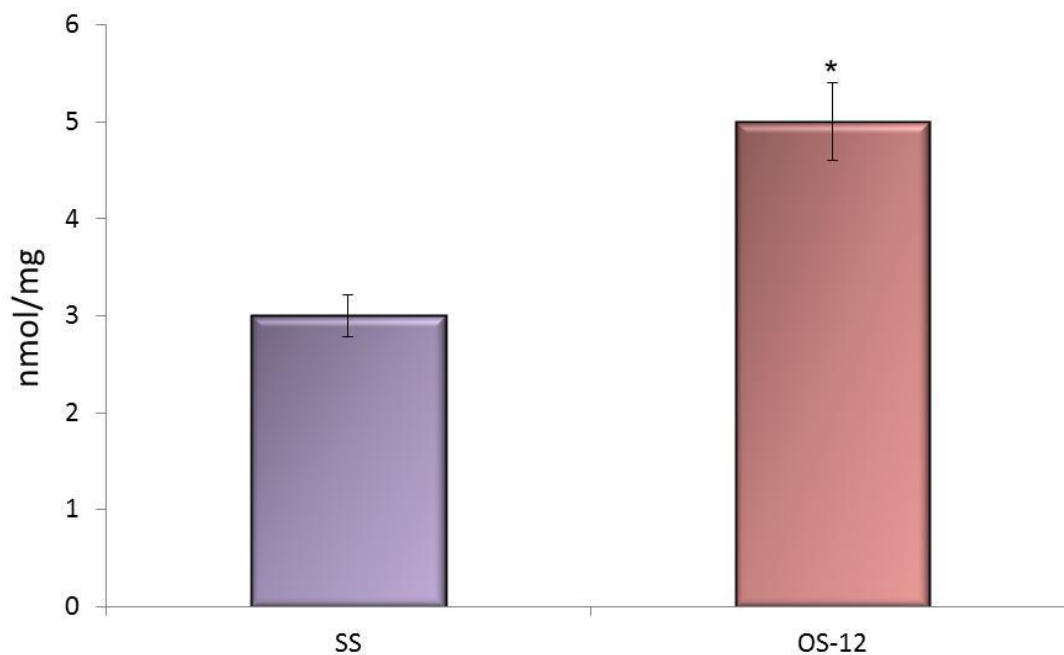


Figura 32. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos selvagens sedentárias (SS) e ob/ob sedentárias (OS-12). *p< 0,05 vs. SS.

ESTUDO 2

6.17. Peso Corporal

O grupo OS-12 apresentou peso corporal maior (50 ± 1 gramas) quando comparado ao grupo OS-4 (25 ± 1 gramas) (Figura 33).

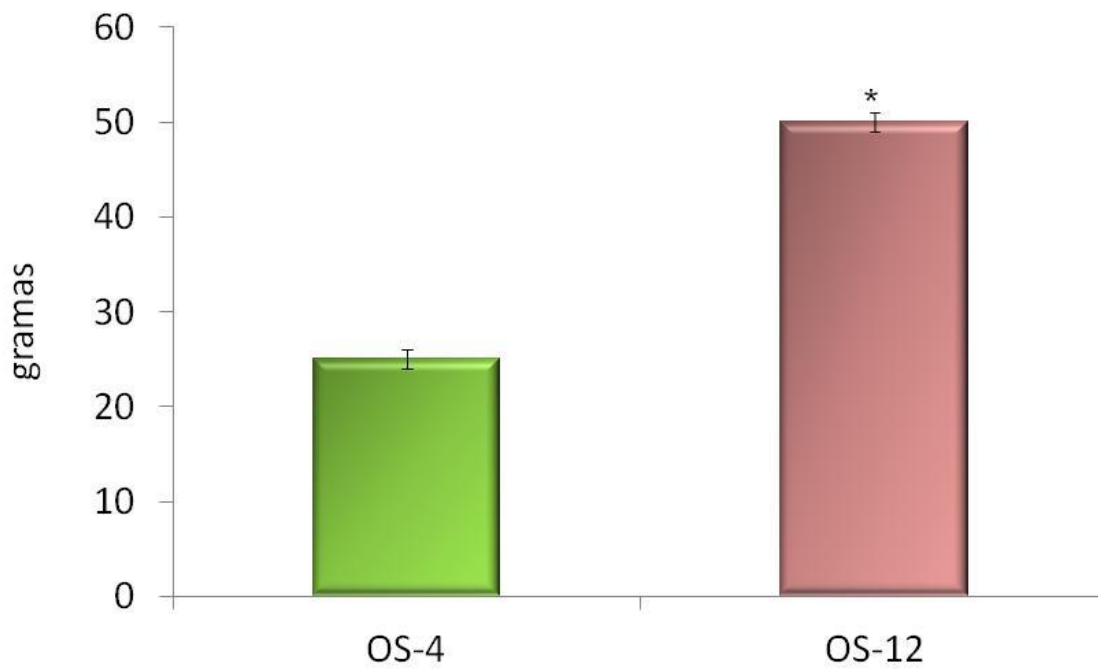


Figura 33. Peso corporal dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.18. Peso dos Tecidos

Na análise do peso absoluto do tecido adiposo abdominal e dos músculos sóleo e gastrocnêmio, observamos aumento no grupo OS-12 em comparação ao grupo OS-4 (Tabela 14).

Tabela 14. Peso absoluto dos tecidos dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=16) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=16).

	Tecido adiposo abdominal (gramas)	Sóleo (gramas)	Gastrocnêmio (gramas)	Plantar (gramas)
OS-4	0,04899±0,00682	0,0046±0,0003	0,053±0,004	0,007±0,0004
OS-12	0,14334±0,01358*	0,0057±0,0003*	0,080±0,002*	0,008±0,0006

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

Em relação aos pesos dos tecidos normalizados pelo peso corporal, observamos que o grupo OS-12 apresentou aumento de gordura abdominal quando comparado ao grupo OS-4 (Tabela 15).

O grupo OS-12 apresentou diminuição dos músculos sóleo, gastrocnêmio e plantar em comparação ao grupo OS-4 (Tabela 15).

Tabela 15. Peso dos tecidos normalizado pelo peso corporal dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=16) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=16).

	Tecido adiposo abdominal (mg/g)	Sóleo (mg/g)	Gastrocnêmio (mg/g)	Plantar (mg/g)
OS-4	0,14334±0,01358	0,00017±0,00001	0,00200±0,00013	0,00030±0,00002
OS-12	0,04899±0,00682*	0,00012±0,00002*	0,00146±0,00013*	0,00016±0,00002*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. SS.

6.19. Glicemia

A glicemia foi maior no grupo OS-12 (180±10 mg/dl) quando comparado ao grupo OS-4 (147±27 mg/dl) (Figura 34).

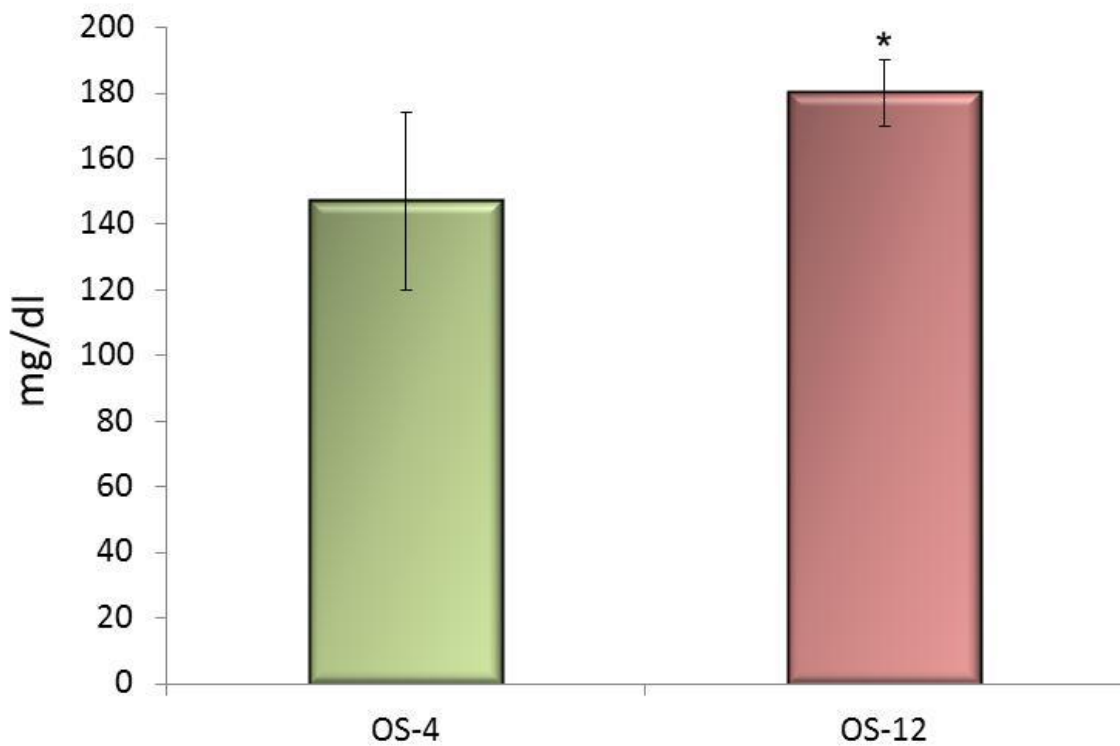


Figura 34. Glicemia dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.20. Teste de Tolerância a Glicose (GTT)

O grupo OS-12 apresentou maior intolerância à glicose quando comparado ao grupo OS-4 (Figura 35).

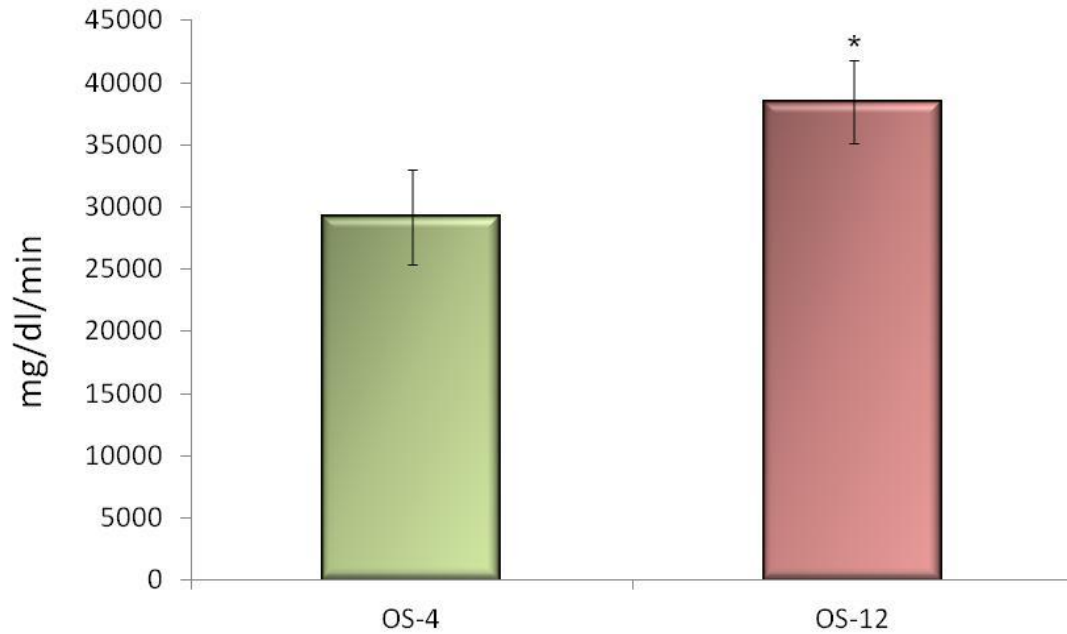


Figura 35. Teste de tolerância a glicose (GTT) nos grupos ob/ob sedentárias 4 semanas (OS-4) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.21. Avaliações Hemodinâmicas: Registro Direto de Pressão Arterial

Não foram observadas diferenças entre os grupos OS-4 e OS-12 em relação à pressão arterial sistólica, diastólica e média e em relação à frequência cardíaca (Tabela 16).

Tabela 16. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob 12 semanas (OS-12, n=12).

	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
OS-4	123 ± 4	98 ± 4	112 ± 4	606 ± 23
OS-12	129 ± 4	97 ± 3	114 ± 4	564 ± 20

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

6.22. Variabilidade da Frequência Cardíaca

Em relação às análises da variabilidade da frequência cardíaca, não observamos nenhuma diferença entre os grupos em relação ao RMSSD, à variância do intervalo de pulso e às bandas de alta e baixa frequência (Tabela 17).

Tabela 17. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos ob/ob com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob com 12 semanas (OS-12, n=12).

	RMSSD	VAR – IP	BF	AF	%BF	%AF	BF/AF
	(ms)	(ms ²)	(ms ²)	(ms ²)	(n.u.)	(n.u.)	
OS-4	5±0,4	31±6	8±4	8±1	40±5	60±5	0,8±0,2
OS-12	6±0,9	33±4	7±2	13±2	38±4	62±4	0,7±0,1

Valores representando média ± erro padrão. Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos (RMSSD), variância do intervalo de pulso (VAR-IP), baixa frequência (BF), alta frequência (AF) e balanço simpato/vagal (BF/HF).

6.23. Variabilidade da Pressão Arterial

O grupo OS-12 apresentou aumento da variância da pressão arterial sistólica quando comparado ao grupo OS-4 (tabela 18, Figura 36). A baixa frequência da pressão arterial sistólica estava aumentada no grupo OS-12 quando comparado ao grupo OS-4 (Tabela 18, Figura 37).

Tabela 18. Variabilidade da pressão arterial dos grupos dos grupos ob/ob com 4 semanas (OS-4, n=10) e ob/ob com 12 semanas (OS-12, n=12).

	VAR – PAS (mmHg²)	BF – PAS (mmHg²)
OS-4	18±1	6±0,6
OS-12	24±3*	10±1,0*

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (VAR-PAS), baixa frequência da pressão arterial sistólica (BF-PAS). * p< 0,05 vs. OS-4.

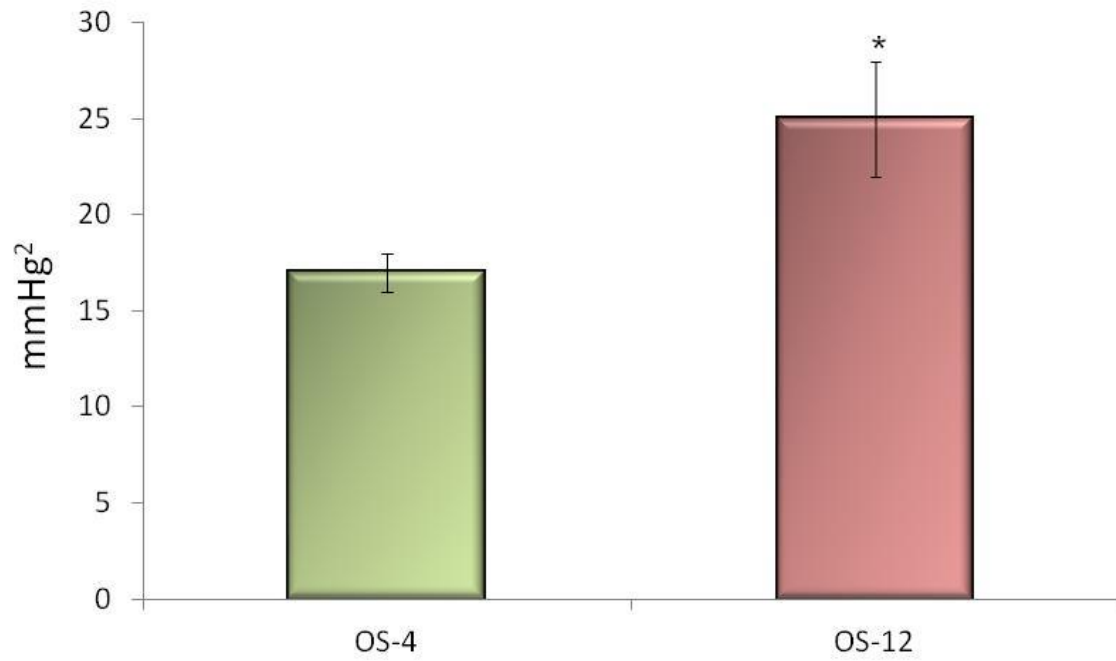


Figura 36. Variância da pressão arterial sistólica dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12).

* $p < 0,05$ vs. OS-4.

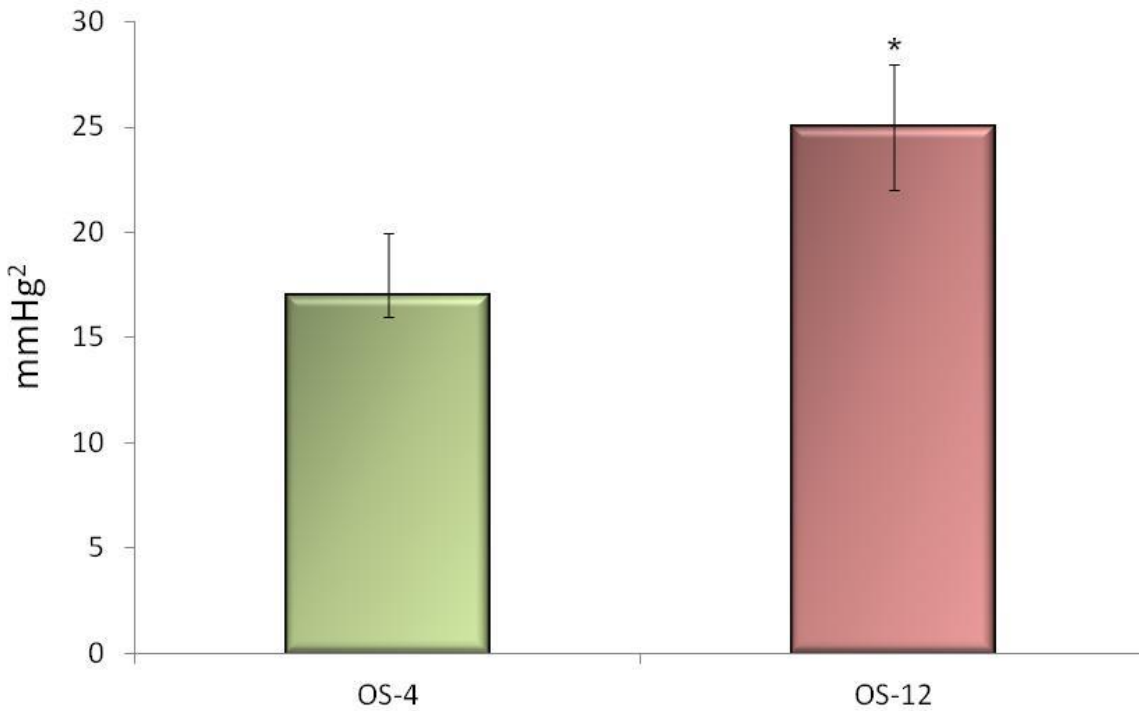


Figura 37. Banda de baixa frequência da pressão arterial dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.24. Sensibilidade Barorreflexa Espontânea- Índice Alfa

Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação ao índice alfa entre os grupos OS-4 ($1,04 \pm 0,17$ ms/mmHg) e OS-12 ($0,74 \pm 0,07$ ms/mmHg), apesar de haver uma tendência ao aumento da sensibilidade barorreflexa espontânea no grupo OS-4 em relação ao grupo OS-12 ($p=0,07$).

6.25. Catecolaminas

Em relação às catecolaminas em tecido adiposo, não observamos diferenças entre os grupos OS-4 e OS-12 em relação à noradrenalina, adrenalina e L-Dopa. Entretanto, observamos aumento da dopamina no grupo OS-12 quando comparado ao grupo OS-4 (Tabela 19, Figura 38).

Tabela 19. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Noradrenalina (ng/g)	Adrenalina (ng/g)	L-Dopa (ng/g)	Dopamina (ng/g)
OS-4	2469±1040	300±123	1521±112	811±163
OS-12	1102±219	453±40	1894±168	1718±211*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-4.

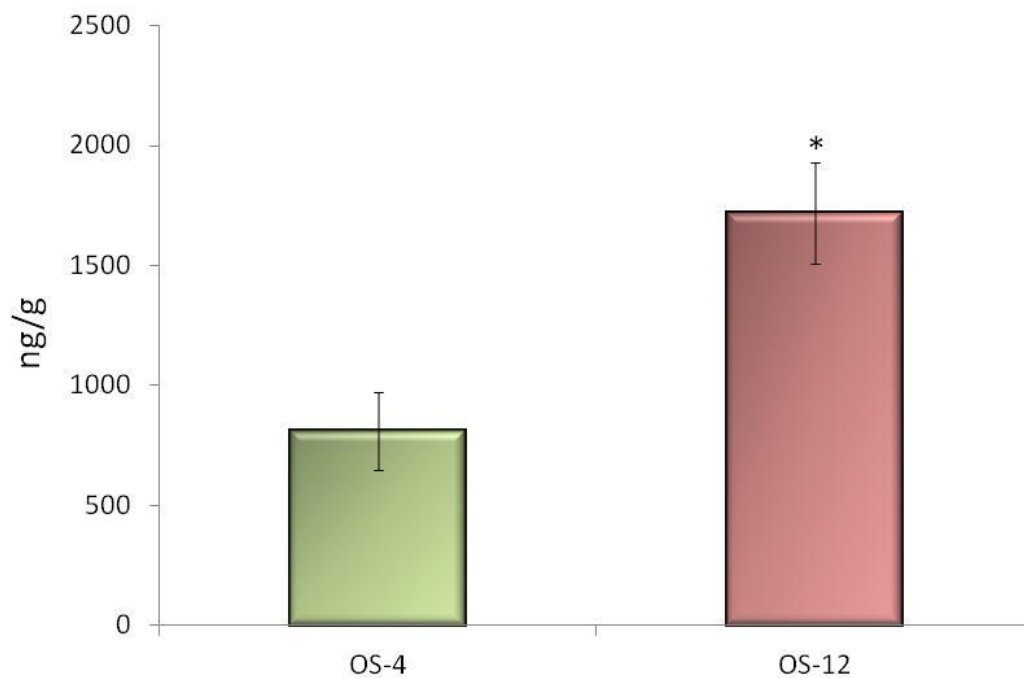


Figura 38. Dopamina no tecido adiposo dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.26. Angiotensinas

6.26.1. Tecido Adiposo

Não observamos diferenças entre os grupos SS e OS-12 na angiotensina 1-7 e na angiotensina 2 dosadas no tecido adiposo (Tabela 20).

Tabela 20. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
OS-4	152±11	356±19
OS-12	161±17	357±12

Valores representando média ± erro padrão.

6.26.2. Rim

Os grupos OS-4 e OS-12 foram semelhantes em relação nas dosagens renais de angiotensina 1-7 e também de angiotensina 2 (Tabela 21).

Tabela 21 Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
OS-4	215±22	331±19
OS-12	232±14	321±24

Valores representando média ± erro padrão.

6.26.3. Ventrículo Esquerdo

Não observamos diferenças entre os grupos em relação a angiotensina 1-7 e em relação à angiotensina 2, entre os grupos estudados (Tabela 22).

Tabela 22. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Angiotensina 1-7 (pmol/g)	Angiotensina 2 (pmol/g)
OS-4	230±16	306±17
OS-12	250±13	294±10

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-4.

6.27. Estresse Oxidativo

6.27.1 Rim

Observamos aumento das proteínas oxidadas (carbonilas) no grupo ob/ob 12 semanas (OS-12) comparado ao grupo ob/ob com 4 semanas (OS-4) (Figura 39, Tabela 23). Além disso, também houve aumento da lipoperoxidação (TBARS) no grupo OS-12 em comparação ao grupo OS-4 (Tabela 23, Figura 40).

Em relação às enzimas antioxidantes no tecido renal, o grupo OS-12 apresentou aumento da SOD em relação ao grupo OS-4 (Tabela 23). Em relação à GPx, observamos redução da atividade desta enzima no grupo ob/ob com 12 semanas (OS-12) comparado ao grupo ob/ob com 4 semanas (OS-4) (Tabela 23). Não houve diferença na CAT entre os grupos.

Tabela 23. Parâmetros de estresse oxidativo no rim dos grupos obesas sedentárias com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentárias com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Carbonilas (nmol/ mg proteína)	TBARS (umoles/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)	GPx (umol/min/mg proteína)
OS-4	6±0,2	4±1	11±1	2,5±0,2	0,102±0,014
OS-12	8±0,5*	11±1*	18±1*	2,1±0,2	0,067±0,005*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-4.

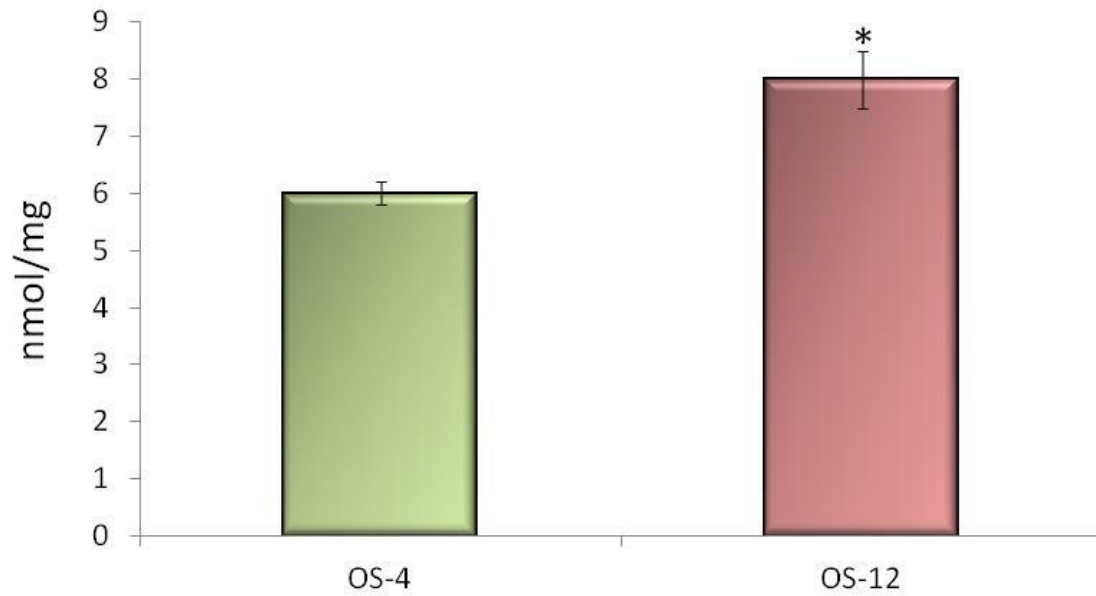


Figura 39. Proteínas carboniladas no rim dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

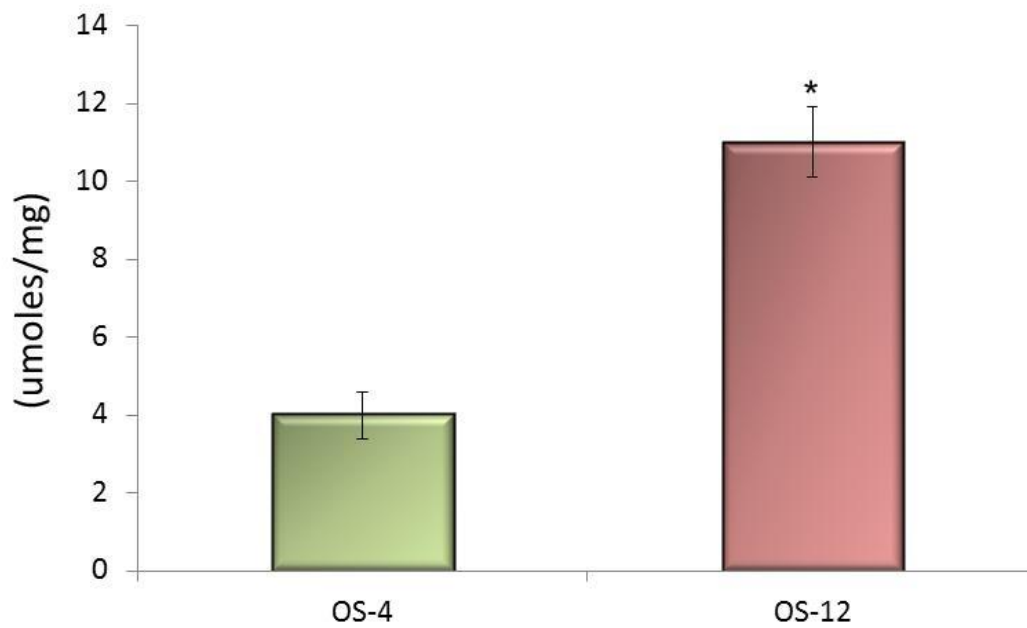


Figura 40. TBARS no rim dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

6.27.2 Ventrículo Esquerdo

Em relação às proteínas oxidadas (carbonilas) no ventrículo esquerdo, observamos que o grupo OS-12 apresentou valores aumentados em comparação ao grupo OS-4 (Tabela 24, Figura 41). No entanto, os grupos OS-4 e OS-12 apresentaram resultados semelhantes em relação à SOD e a CAT (Tabela 24).

Tabela 24. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos obesos sedentários com 4 semanas (OS-4, n=8) e ob/ob sedentários com 12 semanas (OS-12, n=8).

	Carbonilas (nmol/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)
OS-4	3±0,5	10±1	0,3±0,02
OS-12	5±0,4*	10±1	0,4±0,04

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-4.

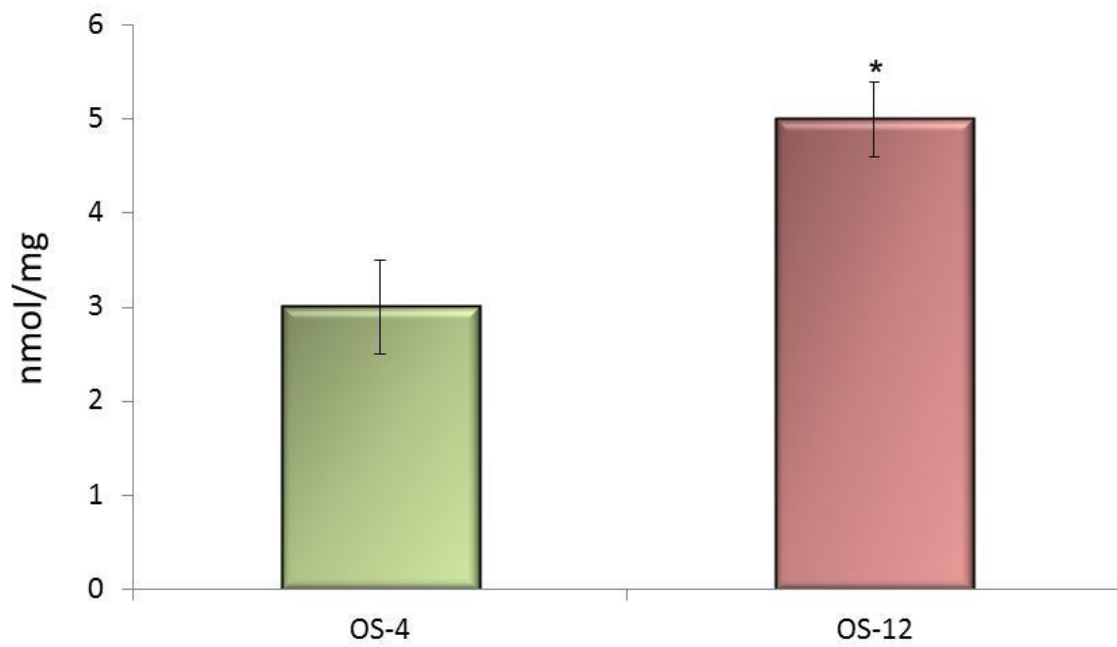


Figura 41. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob 4 semanas (OS-4) e ob/ob com 12 semanas (OS-12). * $p < 0,05$ vs. OS-4.

ESTUDO 3

6.28. Peso Corporal

A Figura 42 apresenta o acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo nos grupos OS-12 e submetidos aos diferentes protocolos de treinamento físico.

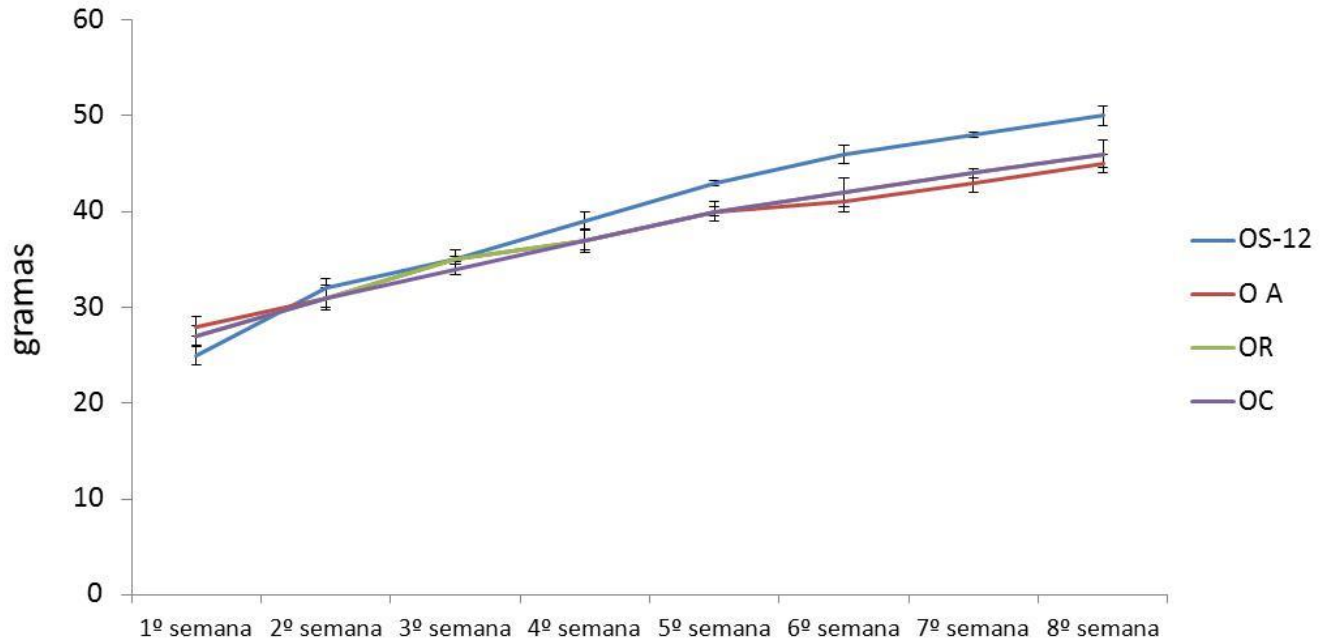


Figura 42. Acompanhamento do peso corporal durante as 8 semanas de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).

No início do protocolo o peso corporal foi semelhante entre os grupos de camundongos ob/ob (OS-12: $26 \pm 0,3$, AO: $28 \pm 0,4$, OR: $27 \pm 1,3$ e OC: 27 ± 1 gramas). Após as 8 semanas de protocolo, todos os grupos apresentaram aumento do peso corporal quando comparados com seus valores no

início do protocolo. Independentemente do tipo de treinamento físico, os grupos de camundongos ob/ob treinados (AO: $44 \pm 0,2$, OR: $45 \pm 0,5$ e OC: $45 \pm 0,9$ gramas) apresentaram menor peso corporal quando comparados ao grupo ob/ob sedentárias (OS-12: $50 \pm 0,5$ gramas) (Figura 43).

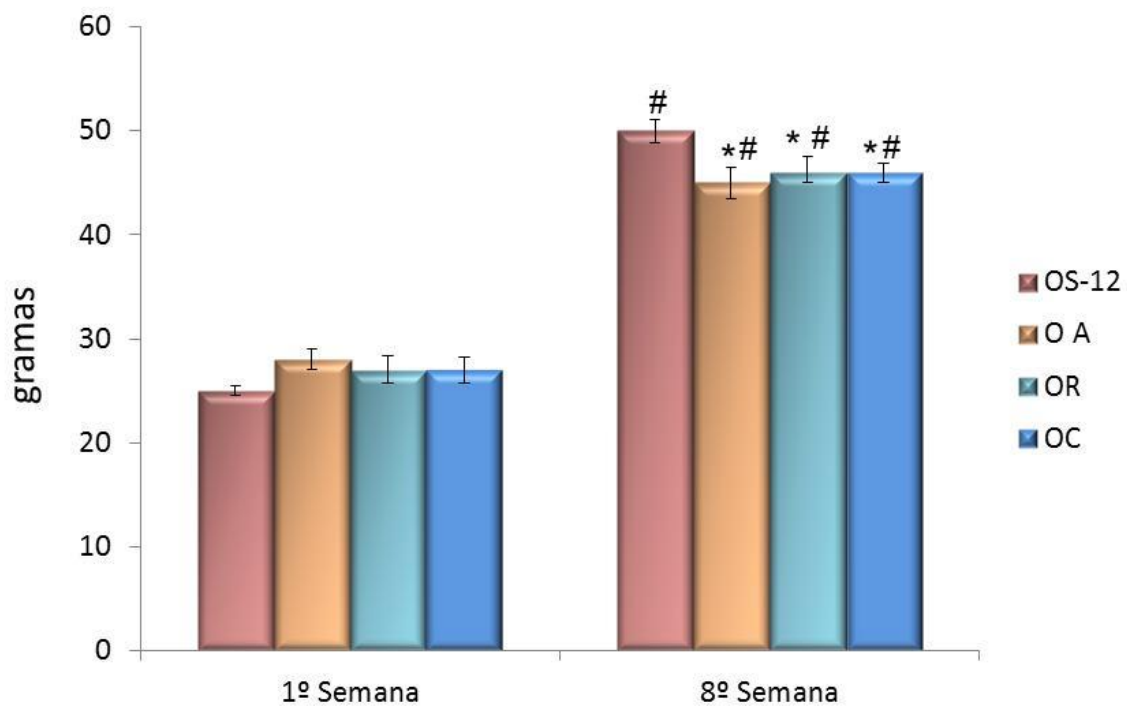


Figura 43. Peso corporal no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentários (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (AO, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * $p < 0,05$ vs. OS-12, # $p < 0,05$ vs. 1ª semana.

Em relação ao ganho de peso corporal total durante o protocolo, observamos que o grupo obesas sedentárias (OS-12: $25 \pm 1,0$ gramas) ganhou mais peso durante o protocolo quando

comparados aos grupos obesas submetidas ao treinamento físico (AO: $17\pm 0,5$, OR: $19\pm 0,8$ e OC: $19\pm 0,6$ gramas) (Figura 44).

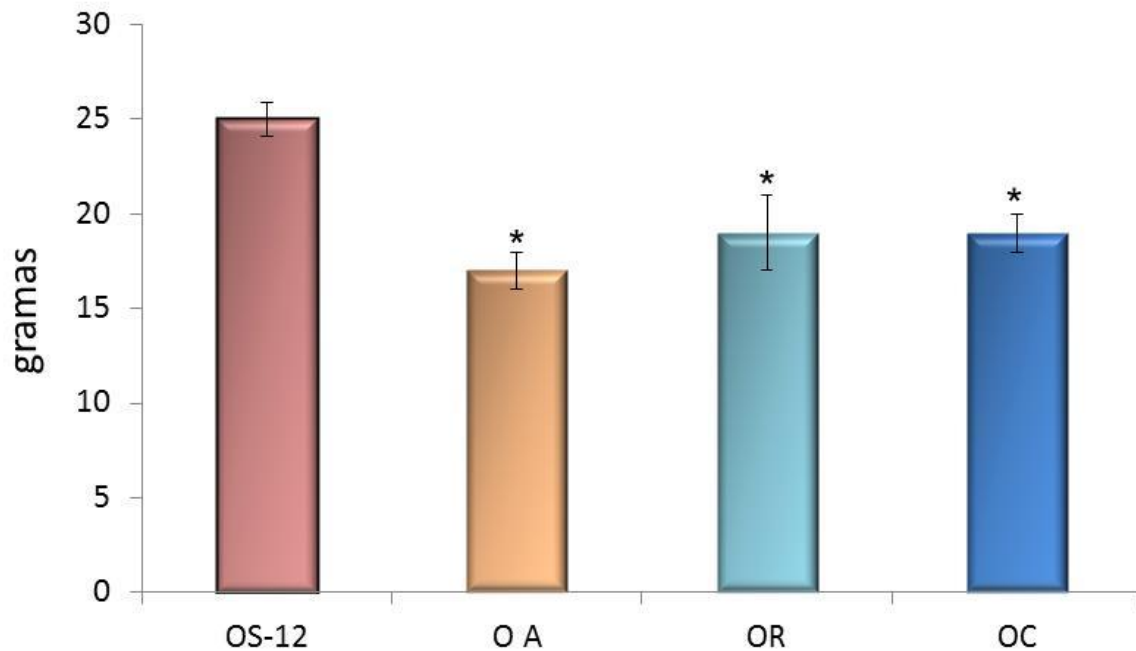


Figura 44. Ganho de peso corporal durante o protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.29. Peso dos Tecidos

Os três tipos de treinamento físico foram eficientes em reduzir o peso do tecido adiposo abdominal nos grupos treinados quando comparados ao grupo obeso que permaneceu sedentário (Tabela 25, Figura 45).

Em relação ao músculo sóleo, os grupos OC e OA apresentaram valores aumentados em relação ao grupo OS-12. Adicionalmente, o grupo OC teve maior peso de músculo sóleo quando comparado ao grupo OR (Tabela 25, Figura 46).

Não observamos diferenças no peso do gastrocnêmio entre os grupos estudados (Tabela 25). Entretanto, o grupo que realizou o treinamento resistido (OR) apresentou aumento do peso do músculo plantar quando comparado aos grupos sedentários (OS-12) e treinamento aeróbio (OA) (Tabela 25, Figura 47).

Tabela 25. Peso dos tecidos dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=12), ob/ob treinamento resistido (OR, n=12) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=12).

	Tecido adiposo abdominal (gramas)	Sóleo (gramas)	Gastrocnêmio (gramas)	Plantar (gramas)
OS-12	8,0±0,2	0,0054±0,0003	0,08±0,002	0,008±0,0005
OA	5,5±0,2*	0,0061±0,0001*	0,07±0,003	0,008±0,0005
OR	5,8±0,2*	0,0050±0,0004	0,07±0,003	0,011±0,001* ¥
OC	6,0±0,4*	0,0066±0,0003*†	0,07±0,002	0,010±0,001

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p<0,05 vs. ao, † p< 0,05 vs. OR

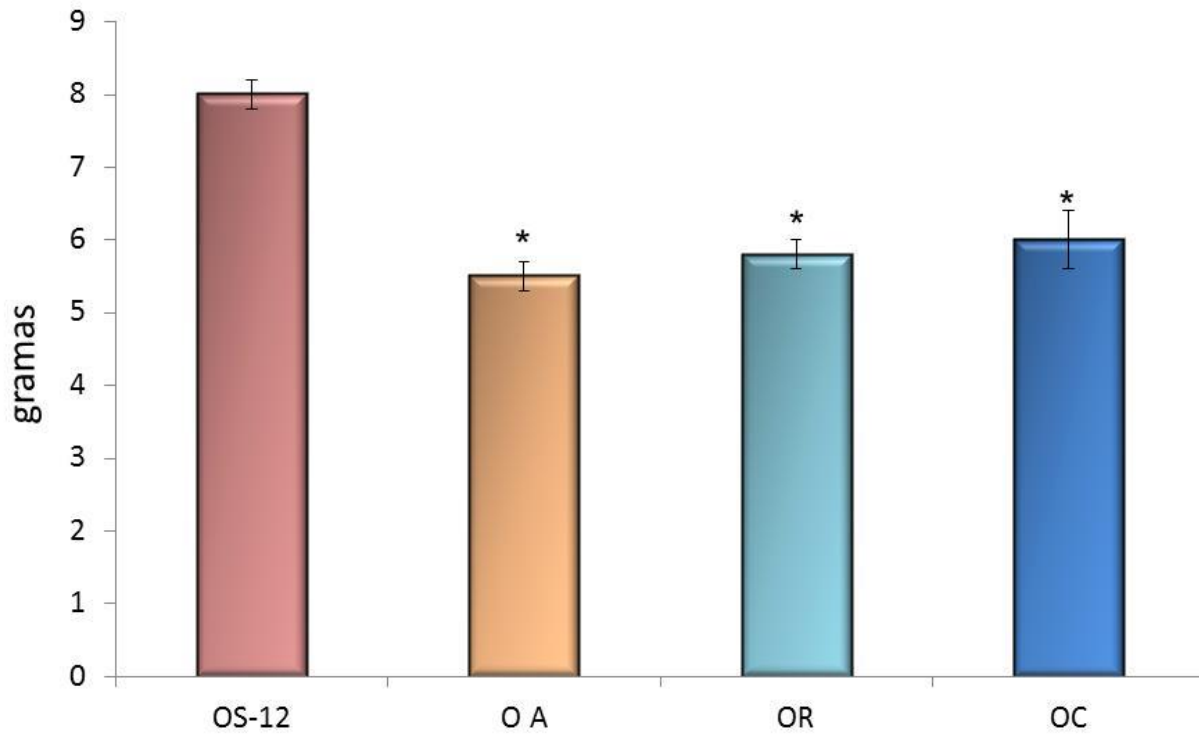


Figura 45. Peso do tecido adiposo abdominal dos grupos ob/ob sedentárias ob/ob treinamento aeróbio, ob/ob treinamento resistido e ob/ob treinamento combinado. * $p < 0,05$ vs. OS-12.

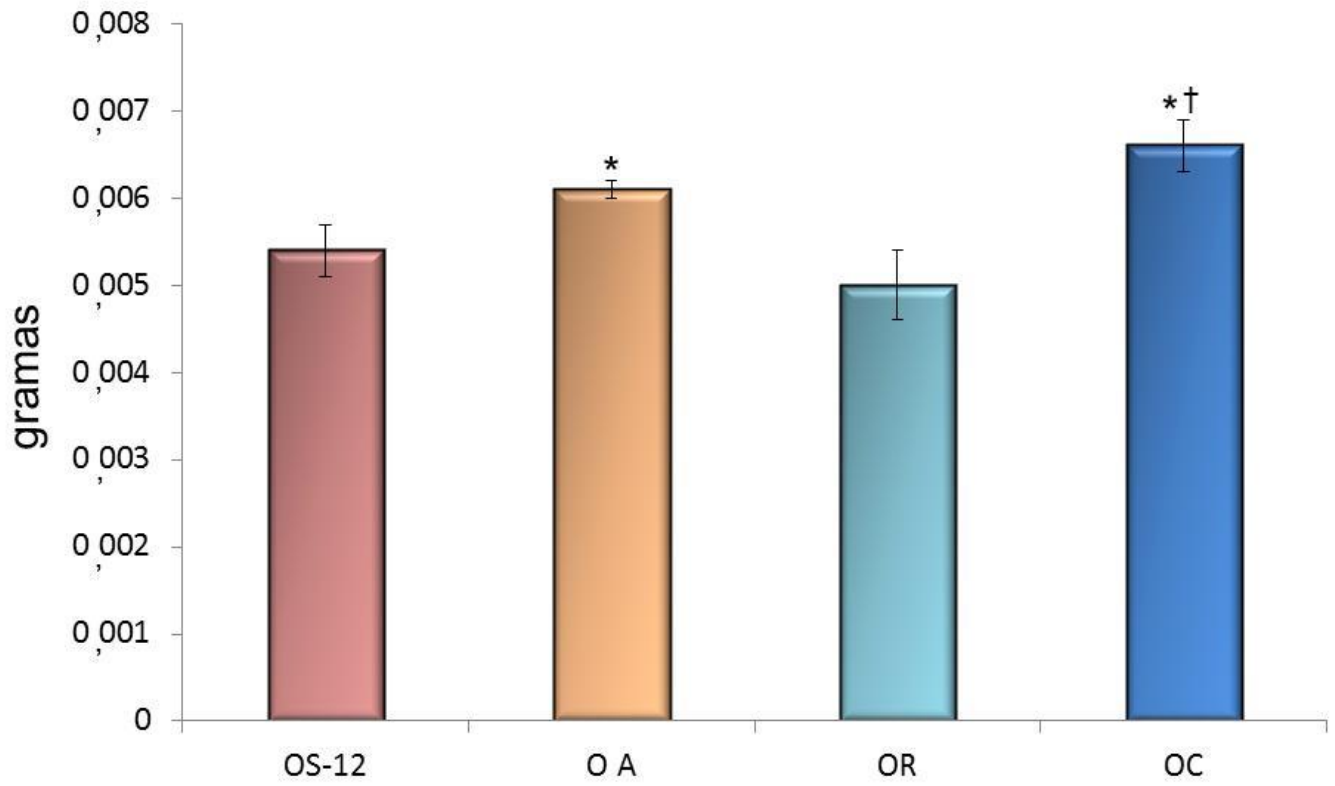


Figura 46. Peso do músculo sóleo dos grupos ob/ob sedentárias ob/ob treinamento aeróbio, ob/ob treinamento resistido e ob/ob treinamento combinado. * $p < 0,05$ vs. OS-12.

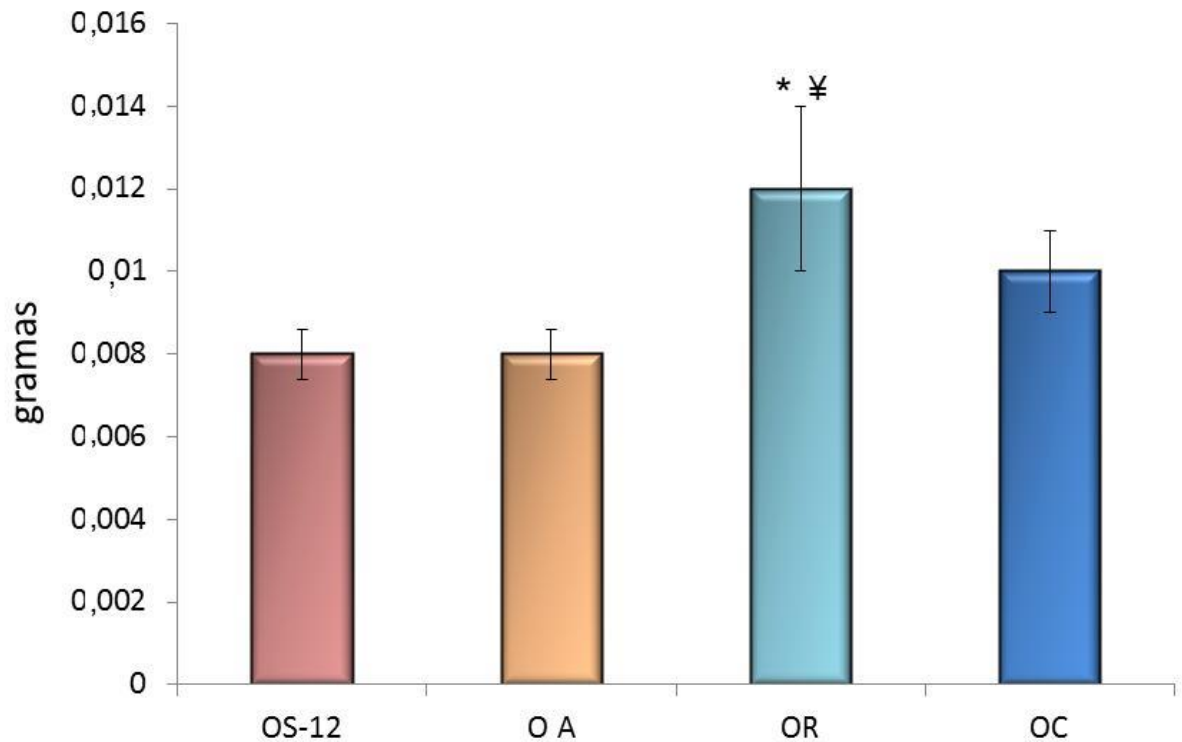


Figura 47. Peso do músculo plantar dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. OA.

6.30. Teste de Esforço em Esteira

No início do protocolo, não observamos diferenças entre os grupos em relação ao tempo máximo no teste de esforço em esteira (OS-12: $11 \pm 0,3$; OA: $11 \pm 0,3$, OR: $11 \pm 0,4$ e OC: $11 \pm 0,5$ minutos).

Após as 8 semanas de treinamento físico, os grupos de obesas treinadas (AO: $12 \pm 0,6$, OR: $10 \pm 0,3$ e OC: $11 \pm 0,7$ minutos) apresentaram melhor capacidade de exercício em esteira comparados ao grupo ob/ob sedentárias (OS-12: $8 \pm 0,3$ minutos). Além disso, o grupo que treinou somente em esteira (AO) e o grupo que treinou em esteira e em escada (OC) apresentaram maior tempo de corrida no teste máximo quando comparado ao grupo que treinou apenas em escada (OR).

Adicionalmente, somente o grupo OS-12 apresentou redução do tempo máximo no teste na esteira no final do protocolo quando comparado aos seus valores iniciais (Figura 48).

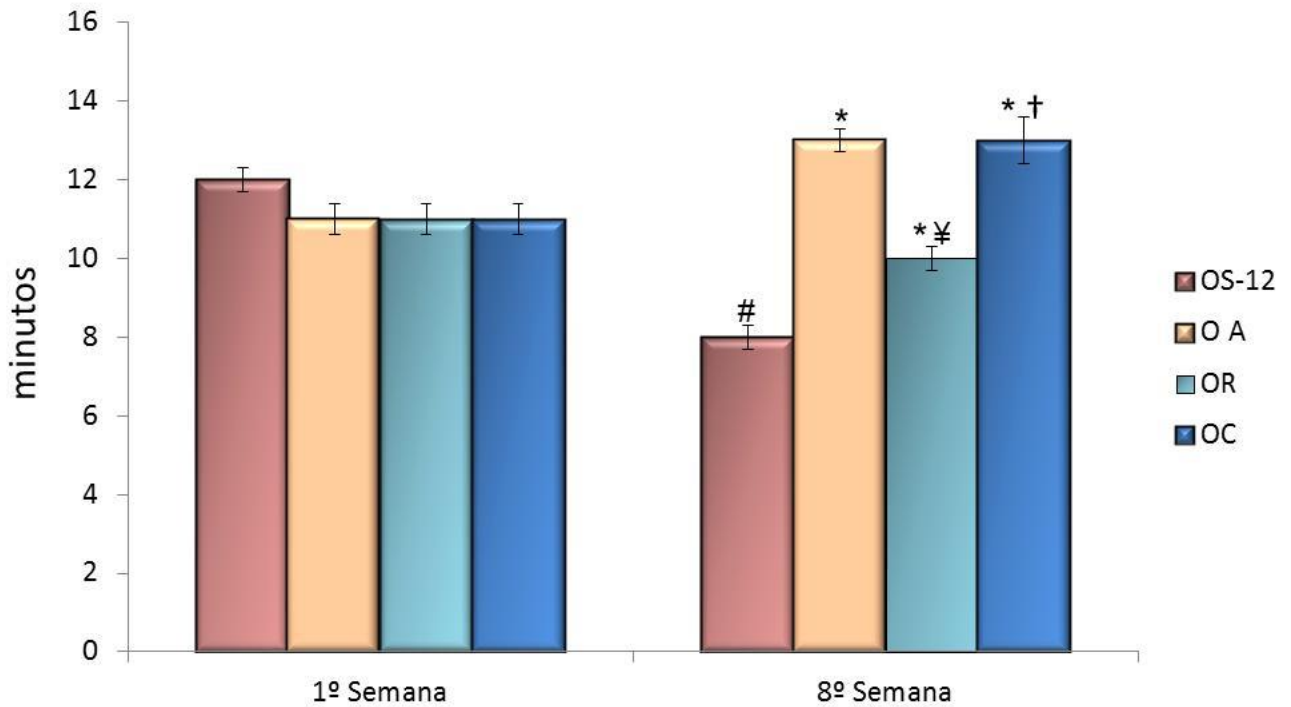


Figura 48. Tempo máximo de corrida no teste de esforço máximo em esteira no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbico (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p< 0,05 vs. OS-12, ‡ p< 0,05 vs. OA, † p< 0,05 vs. OR, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.31. Teste de Carga Máxima em Escada

No início do protocolo, não observamos diferenças em relação à carga máxima entre os grupos obesos (OS-12: 132±2; OA: 121±8, OR: 129±10 e OC: 156±6 % do peso corporal).

Após as 8 semanas de protocolo, os grupos submetidos ao treinamento físico (AO: 145 ± 3 , OR: 187 ± 7 e OC: $197\pm 5\%$ do peso corporal) apresentaram melhor desempenho no teste de carga máxima quando comparado ao grupo ob/ob sedentárias (OS-12: $87\pm 1\%$ do peso corporal). Adicionalmente, o grupo OR alcançou maiores valores no teste de carga máxima quando comparado ao grupo OA (Figura 6). Entretanto, o grupo submetido ao treinamento combinado (OC) atingiu maior força no teste de carga máxima em relação ao grupo que realizou apenas o treino em esteira (OA) e apenas em escada (OR). Quando comparamos a força máxima no final do protocolo com a do início do protocolo, observamos que o grupo OS-12 apresentou diminuição da força máxima, enquanto todos os grupos treinados apresentaram aumento da força máxima (Figura 49).

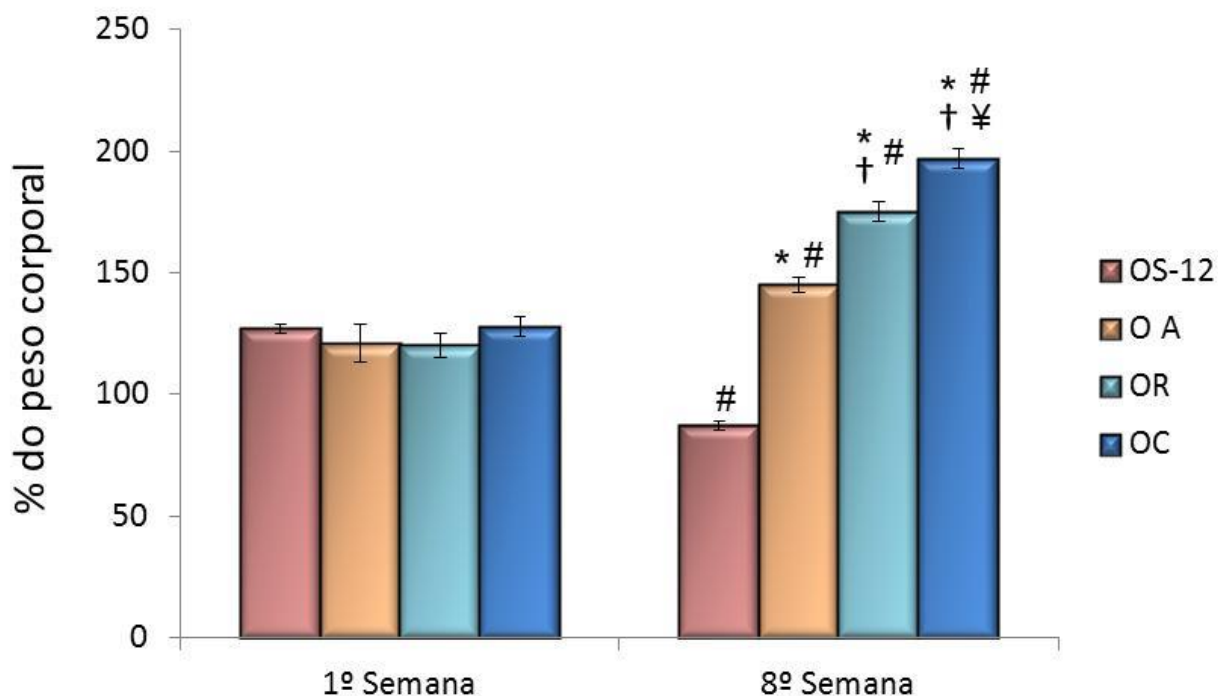


Figura 49. Carga máxima normalizada pelo peso corporal alcançada no teste de carga máxima em escada no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p<0,05 vs. OS-12, ‡ p<0,05 vs. OA, † p<0,05 vs. OR, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.32. Glicemia

No início do protocolo, não observamos diferenças entre os grupos obesos em relação à glicemia (OS-12: 165±9, AO: 178±13, OR:178±12 e OC:178±12 mg/dl). Ao final do protocolo, os grupos submetidos aos diferentes protocolos de treinamento físico (OA: 139±8, OR: 145±9 e OC: 143±11 mg/dL) apresentaram diminuição da glicemia quando comparados ao grupo OS-12 (180±10 mg/dL) e foram semelhantes entre eles (Figura 50). Além disso, os grupos submetidos ao treino em esteira (AO e OC) apresentaram uma redução adicional na glicemia na oitava semana quando comparados ao grupo que realizou treino em escada (OR). Ao compararmos os grupos na oitava

semana com seus respectivos valores na primeira semana, observamos que o grupo OS-12 apresentou aumento da glicemia ao final do protocolo, enquanto os grupos que foram submetidos ao treinamento físico apresentaram redução da glicemia.

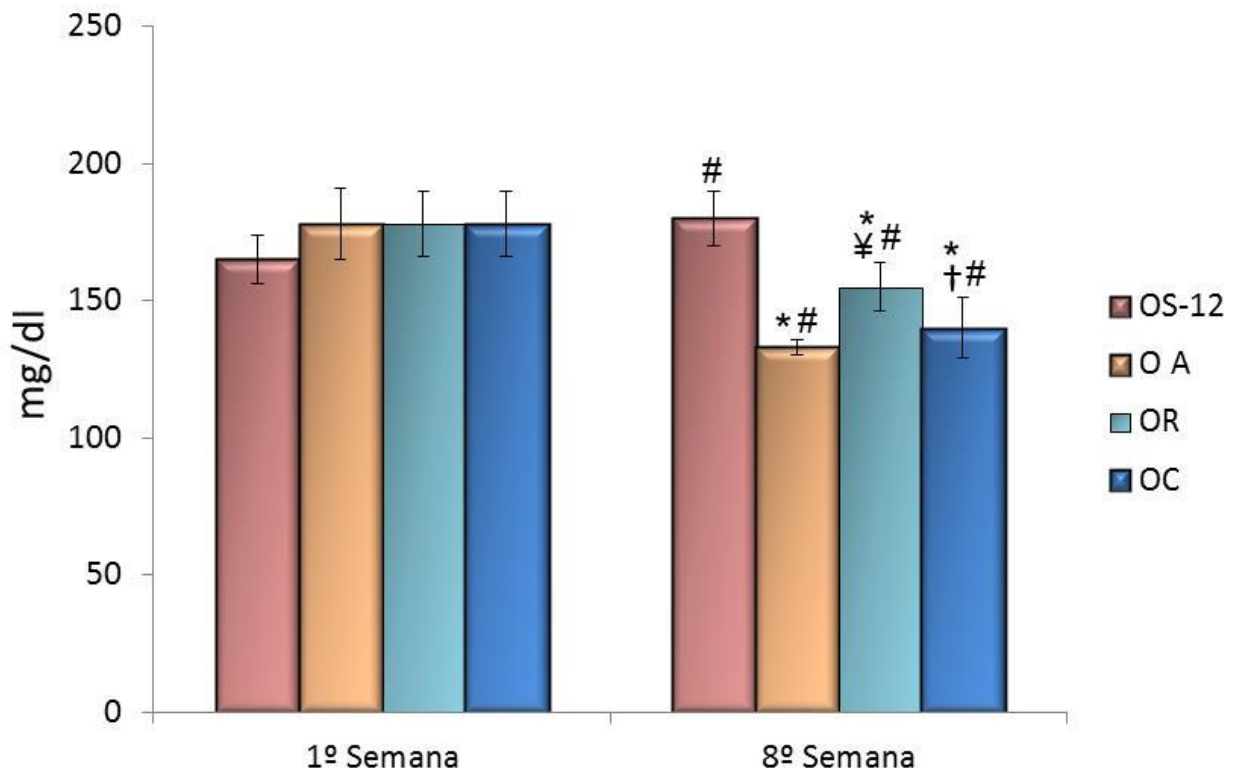


Figura 50. Glicemia no início (1ª semana) e ao final (8ª semana) do protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p< 0,05 vs. OS-12, ‡ p< 0,05 vs. AO, † p< 0,05 vs. OR, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.33. Triglicérides Sanguíneos

O grupo obesas sedentárias (OS-12: 142 ± 6 mg/dl), obesas treinamento aeróbio (OA: 144 ± 12 mg/dl) e o grupo obesas treinamento resistido (OR: 145 ± 13 mg/dl) foram similares ao final do protocolo em relação aos triglicérides sanguíneo. Porém, a combinação dos dois treinos, aeróbio e resistido (grupo OC), foi eficiente em reduzir os valores de triglicérides (OC: 105 ± 6 mg/dL) (Figura 51).

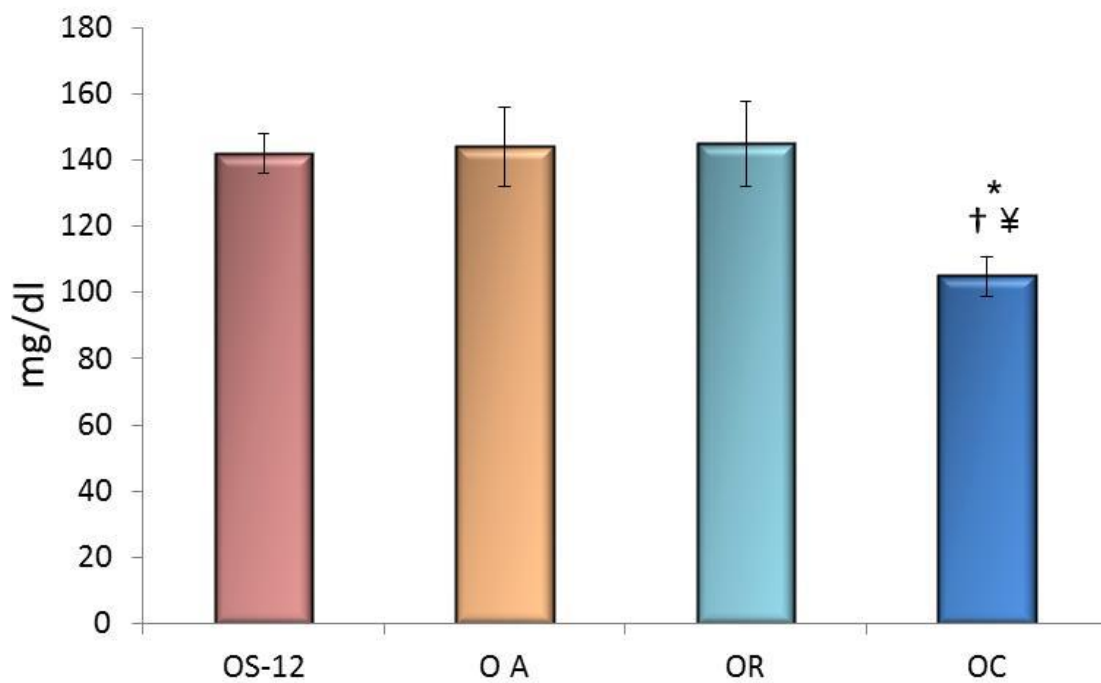


Figura 51. Triglicérides sanguíneos ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos selvagens sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p<0,05 vs. OS-12, ‡ p<0,05 vs. AO, † p<0,05 vs. OR, # p<0,05 vs. 1ª semana.

6.34. Colesterol Total Sanguíneo

Não observamos nenhuma diferença estatística entre os grupos estudados em relação ao colesterol sanguíneo avaliado no final do protocolo (OS-12: 167 ± 2 , OA: 164 ± 2 , OR: 171 ± 2 e OC: 167 ± 2 mg/dL) (n=8 em cada grupo).

6.35. Teste de Tolerância à Glicose (GTT)

O treinamento físico, independente da modalidade, foi eficiente em reduzir a intolerância à glicose (valor da área sobre a curva) nos grupos treinados (OA: 32337 ± 1444 , OR: 26708 ± 1737 e OC: 26319 ± 816 mg/dl/min) quando comparados ao grupo OS-12 O (38491 ± 1272 mg/dl/min). Além disso, observou-se benefício adicional do treinamento físico resistido e do treinamento físico combinado, sendo que os grupos OR e OC apresentaram diminuição da área sobre a curva quando comparados aos grupos OS-12 e OA (Figura 52).

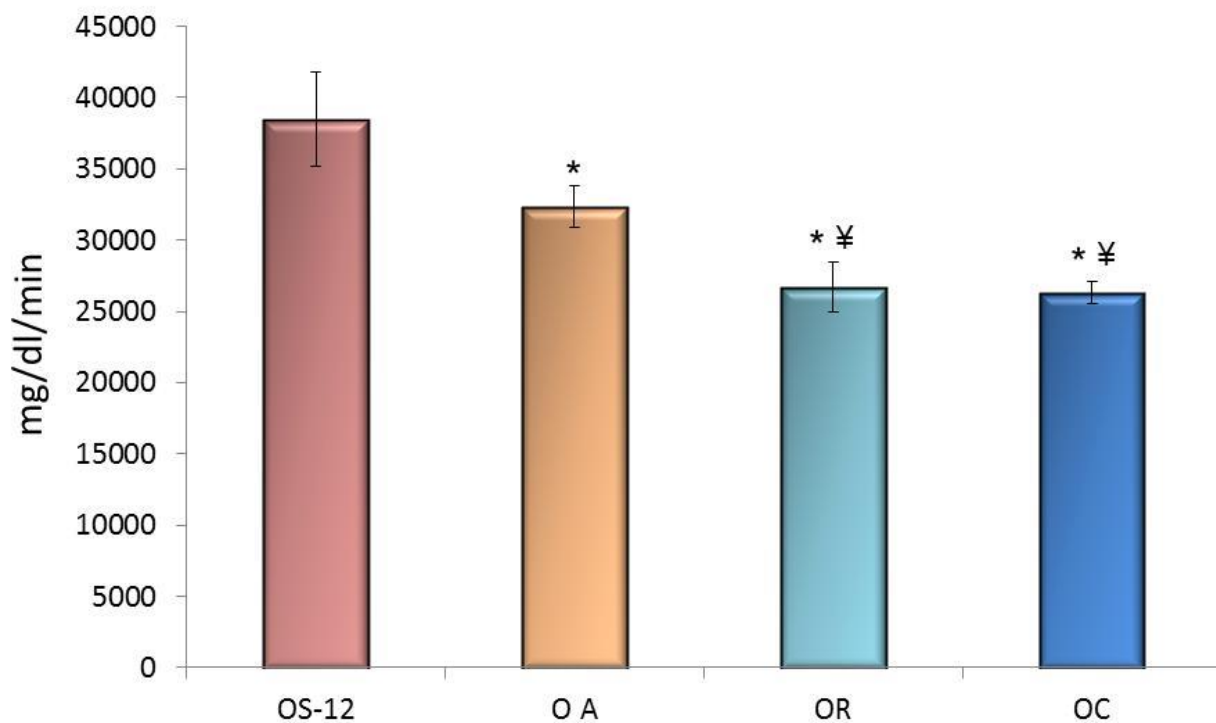


Figura 52. Teste de tolerância à glicose (área sobre a curva) ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p < 0,05 vs. OS-12, ‡ p < 0,05 vs. OA.

6.36. Avaliações Hemodinâmicas

6.36.1. Pletismografia de Cauda

Não foram observadas diferenças em relação à PAS, PAM e PAD entre os grupos em todos os momentos avaliados (Tabela 26).

Tabela 26. Pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) obtidas de forma indireta na 1^o, 4^o e 8^o semanas de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=8), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=8), ob/ob treinamento resistido (OR, n=8) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=8).

		OS-12	O A	OR	OC
PAS (mmHg)	1 ^o SEMANA	105±3	105±2	109±1	110±2
	4 ^o SEMANA	114±3	108±5	112±1	106±2
	8 ^o SEMANA	110±4	107±2	108±3	107±3
PAM (mmHg)	1 ^o SEMANA	81±5	79±2	87±3	86±2
	4 ^o SEMANA	83±4	80±5	80±2	80±2
	8 ^o SEMANA	85±3	80±6	80±5	85±2
PAD (mmHg)	1 ^o SEMANA	67±2	67±2	70±3	73±3
	4 ^o SEMANA	70±5	68±6	66±3	67±2
	8 ^o SEMANA	72±3	72±3	66±6	72±3

Valores representando média ± erro padrão.

6.36.2. Registro Direto de Pressão Arterial

Não foram observadas diferenças entre os grupos em relação à pressão arterial sistólica, diastólica e média e em relação à frequência cardíaca avaliadas de forma direta (Tabela 27).

Tabela 27. Parâmetros hemodinâmicos avaliados de forma direta na 8ª semana de protocolo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=10), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=8), ob/ob treinamento resistido (OR, n=8) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=8).

	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
OS-12	131 ± 4	97 ± 3	114 ± 4	564 ± 20
OA	130 ± 3	93 ± 2	112 ± 3	525 ± 22
OR	129 ± 8	98 ± 5	113 ± 7	526 ± 20
OC	133 ± 2	98 ± 2	116 ± 2	565 ± 22

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

6.37. Sensibilidade Barorreflexa

Não houve diferenças em relação às respostas taquicárdicas entre os grupos (OS-12: 3±0,5 vs. AO: 4±0,4 vs. OR: 3±0,9 vs. OC: 3±0,5 bpm/mmHg). Em relação às respostas bradicárdicas, todos os grupos submetidos aos protocolos de treinamento físico (OA: -6±0,6, OR: -6±0,8, OC: -6±1 bpm/mmHg) apresentaram maiores respostas quando comparados ao grupo sedentário (OS-12: -3±0,6 bpm/mmHg) (Figura 53).

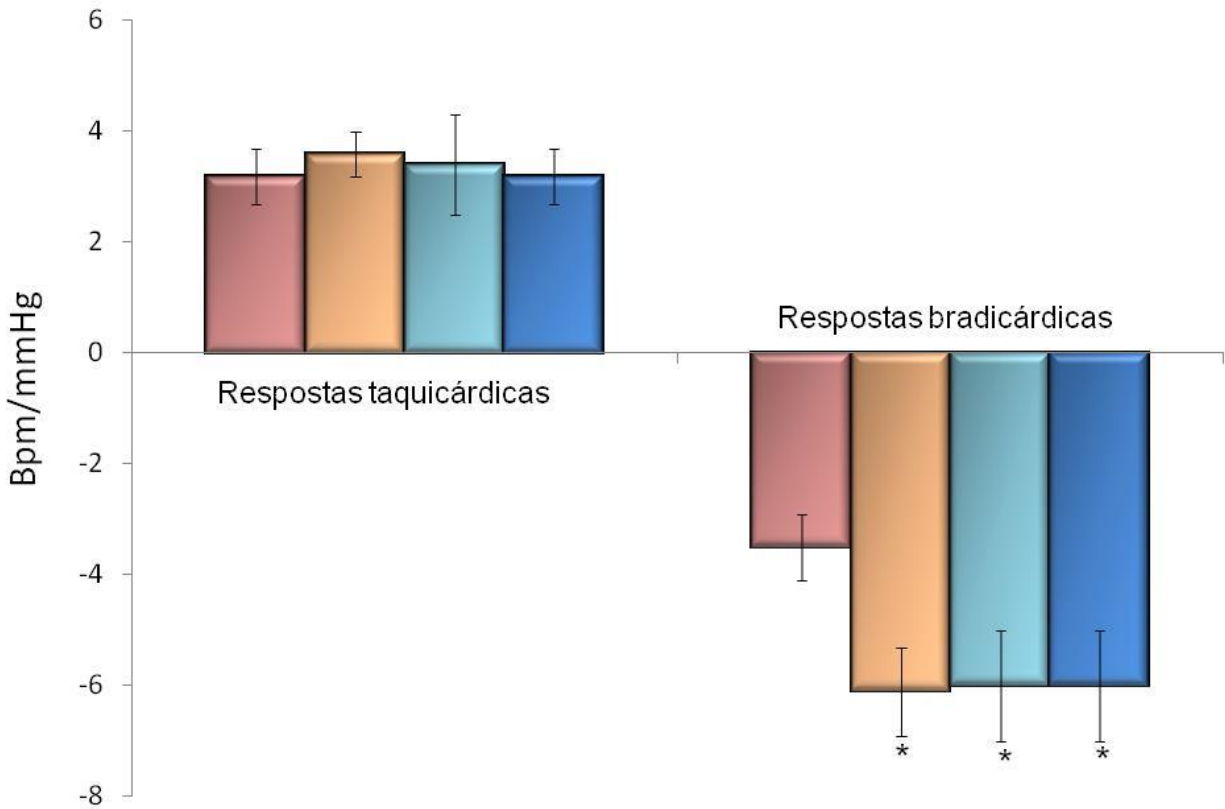


Figura 53. Sensibilidade barorreflexa ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.38. Variabilidade da Frequência Cardíaca

Não observamos diferenças entre os grupos em relação ao RMSSD (Tabela 28). Em relação a variância do intervalo de pulso, os grupos OA e OR apresentaram aumento dessa variável quando comparado ao grupo OS-12. Já o grupo OC não apresentou nenhuma diferença em comparação aos demais grupos estudados (Tabela 28, Figura 54).

Tabela 28. Variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=10), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=8), ob/ob treinamento resistido (OR, n=8) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=8).

	RMSSD	VAR – IP	BF	AF	%BF	%AF	BF/AF
	(ms)	(ms ²)	(ms ²)	(ms ²)	(n.u.)	(n.u.)	
OS-12	6±0,9	33±4	7±2	13±2	38±4	62±4	0,7±0,1
OA	8±1,2	61±8*	12±2	17±4	47±4	53±4	1,0±0,2
OR	8±1,3	66±16*	10±5	24±5	43±6	57±6	0,7±0,2
OC	7±1,0	43±7	5±1	10±2†	41±3	59±3	0,8±0,1

Valores representando média ± erro padrão. RMSSD (raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos), VAR-IP (variância do intervalo de pulso), (BF) baixa frequência, (AF) alta frequência e (BF/HF) balanço simpato/vagal. * p< 0,05 vs. OS-12, , ‡ p< 0,05 vs. AO, † p< 0,05 vs. OR.

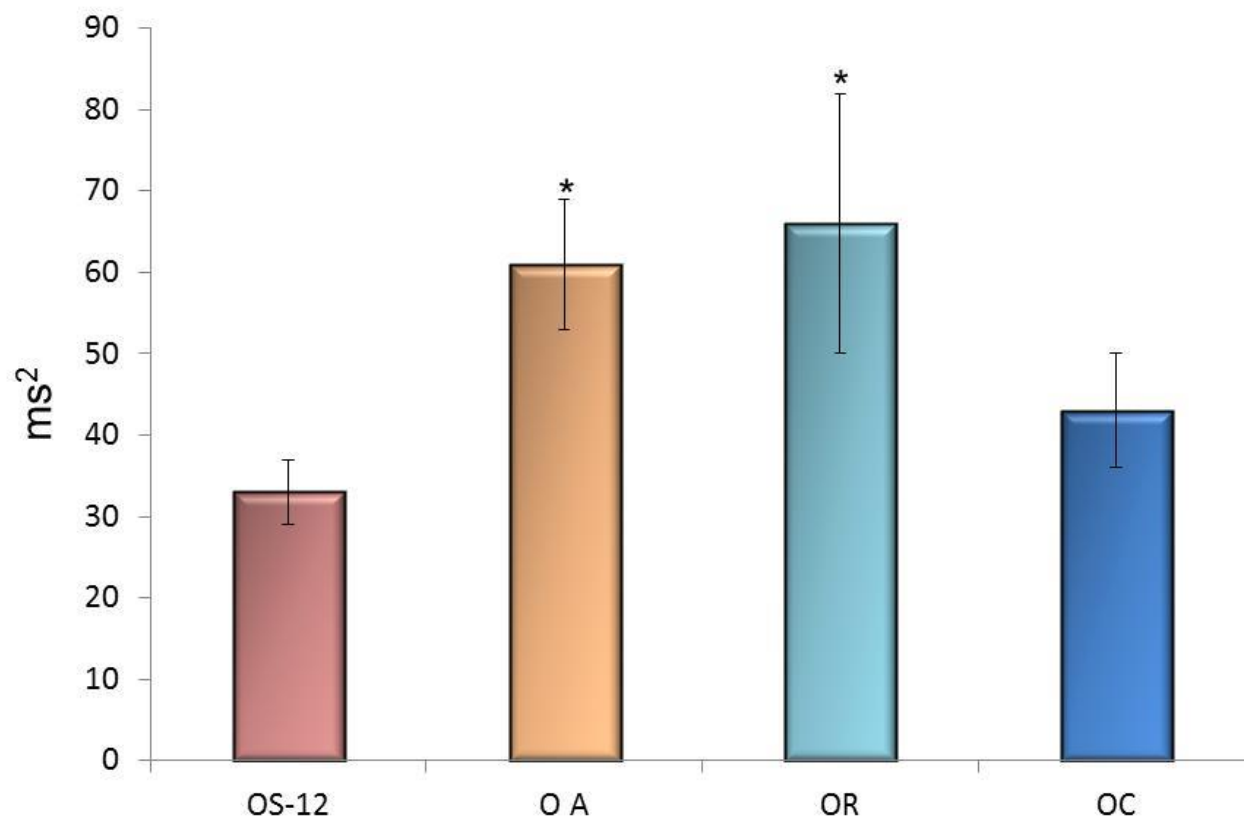


Figura 54. Variância do intervalo de pulso ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbico (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p < 0,05 vs. OS-12.

Em relação aos valores absolutos da banda de baixa frequência, não observamos diferenças entre os grupos estudados. Já em relação à banda de alta frequência, o grupo OC apresentou menores valores quando comparado ao grupo OR. Em relação aos valores normalizados e ao balanço simpato/vagal, não observamos nenhuma diferença entre os grupos estudados. (Tabela 28).

6.39. Variabilidade da Pressão Arterial

Não observamos nenhuma diferença entre os grupos em relação à variância da pressão arterial sistólica (Tabela 29).

A banda de baixa frequência da pressão sistólica estava reduzida nos grupos OA e OR em comparação ao grupo OS-12. O grupo OC não apresentou diferenças em relação aos demais grupos (Tabela 29, Figura 55).

Tabela 29. Variabilidade da pressão arterial dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=10), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=8), ob/ob treinamento resistido (OR, n=8) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=8).

	VAR – PAS (mmHg ²)	BF – PAS (mmHg ²)
OS-12	24±3	10±1,1
OA	16±2	6±0,8*
OR	15±2	6±1,4 *
OC	24±3	8±0,9

Valores representando média ± erro padrão. (VAR-PAS) variância da pressão arterial sistólica; (BF) baixa frequência. * p< 0,05 vs. OS-12, ‡ p< 0,05 vs. AO, † p< 0,05 vs. OR.

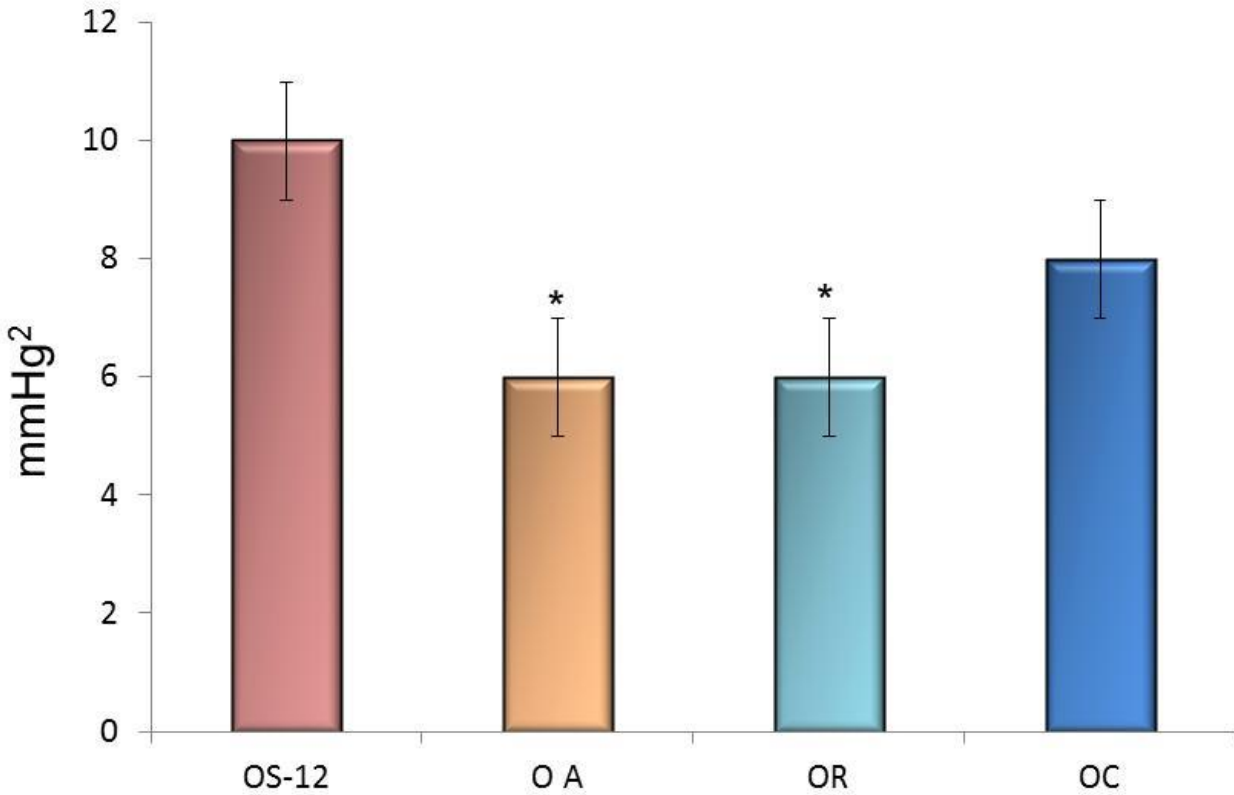


Figura 55. Banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica ao final do protocolo (8ª semana) dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=16), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=16), ob/ob treinamento resistido (OR, n=16) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=16). * p< 0,05 vs. OS-12.

6.40. Catecolaminas

Em relação às catecolaminas, observamos aumento da noradrenalina no grupo OA quando comparado ao grupo OS-12. O grupo OR e OC apresentaram menor noradrenalina quando comparado ao grupo OA, porém sem diferenças em relação ao grupo OS-12. Adicionalmente, o grupo OC apresentou menores valores comparado ao grupo OR (Tabela 30, Figura 56).

Tabela 30. Catecolaminas no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC).

	Noroadrenalina (ng/g)	Adrenalina (ng/g)	L-Dopa (ng/g)	Dopamina (ng/g)
OS-12	1102±219	453±40	1894±168	1718±211
OA	2736±472 *	559±98	1374±125*	891±120*
OR	1597±601†	481±26	876±57*¥	876±155*
OC	798±485 ¥ †	281±109	1616±191*¥†	972±159*

Valores representando média ± erro padrão . * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p< 0,05 vs. AO, † p< 0,05 vs.

OR.

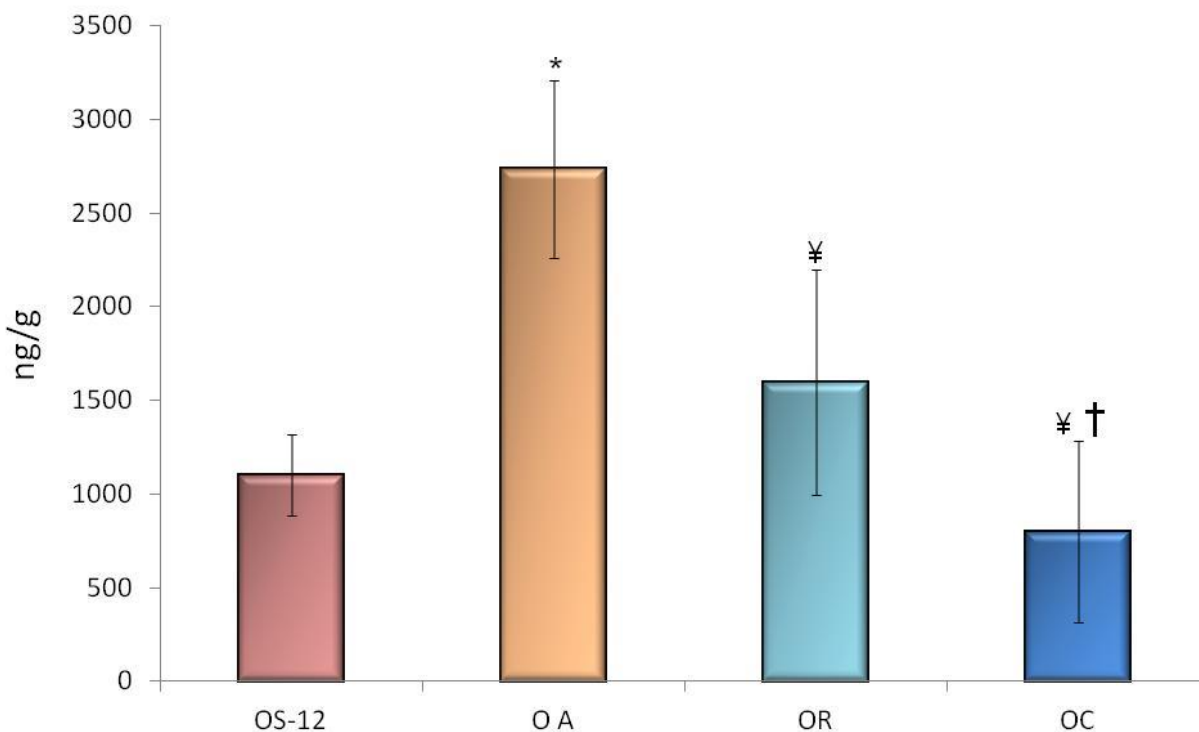


Figura 56. Noradrenalina no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ‡ $p < 0,05$ vs. AO, † $p < 0,05$ vs. OR.

Não observamos diferenças em relação à adrenalina entre os grupos estudados (Tabela 30).

O grupo OA apresentou redução da L-Dopa comparado ao grupo OS-12. O grupo OR apresentou redução da L-Dopa comparado aos grupos OS-12 e OA. Entretanto o grupo OC, apresentou redução dessa variável em relação ao grupo OS-12, mas apresentou aumento da L-Dopa em comparação aos grupos OA e OR (Figura 57, Tabela 30).

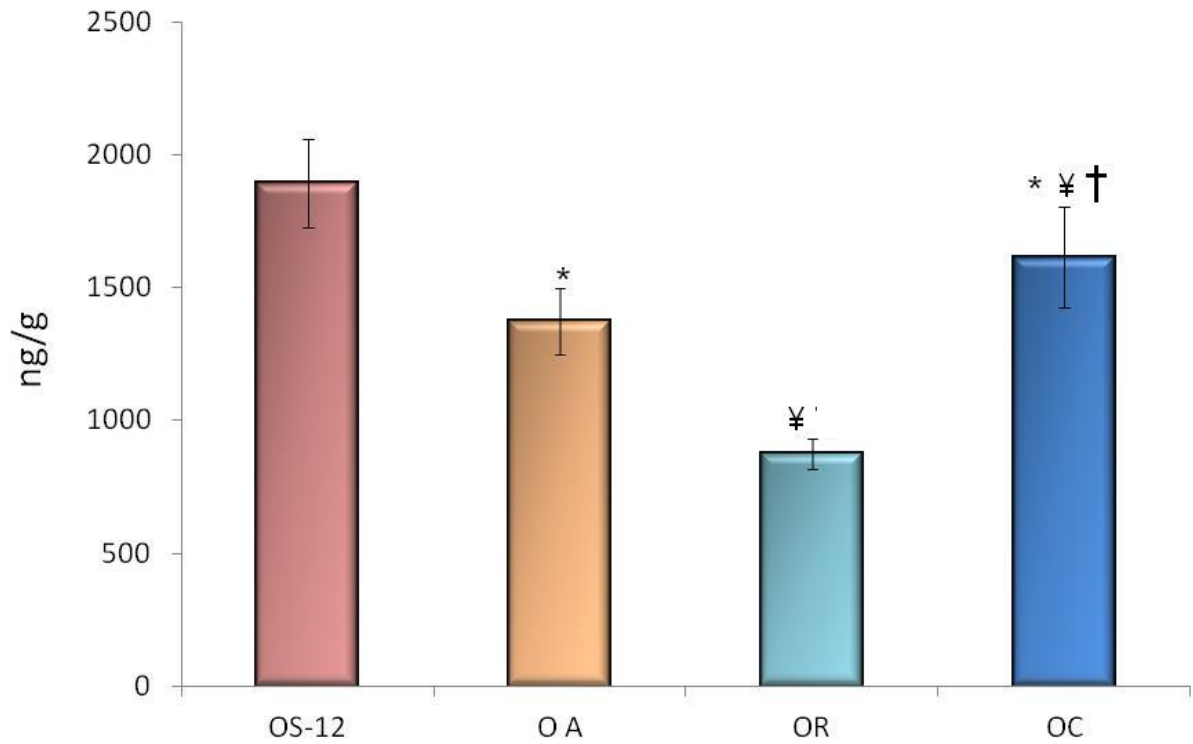


Figura 57. L-Dopa no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. AO, ‡ $p < 0,05$ vs. OR.

Já em relação à dopamina, os grupos treinados apresentaram redução quando comparados ao grupo OS-12 (Figura 58, Tabela 30).

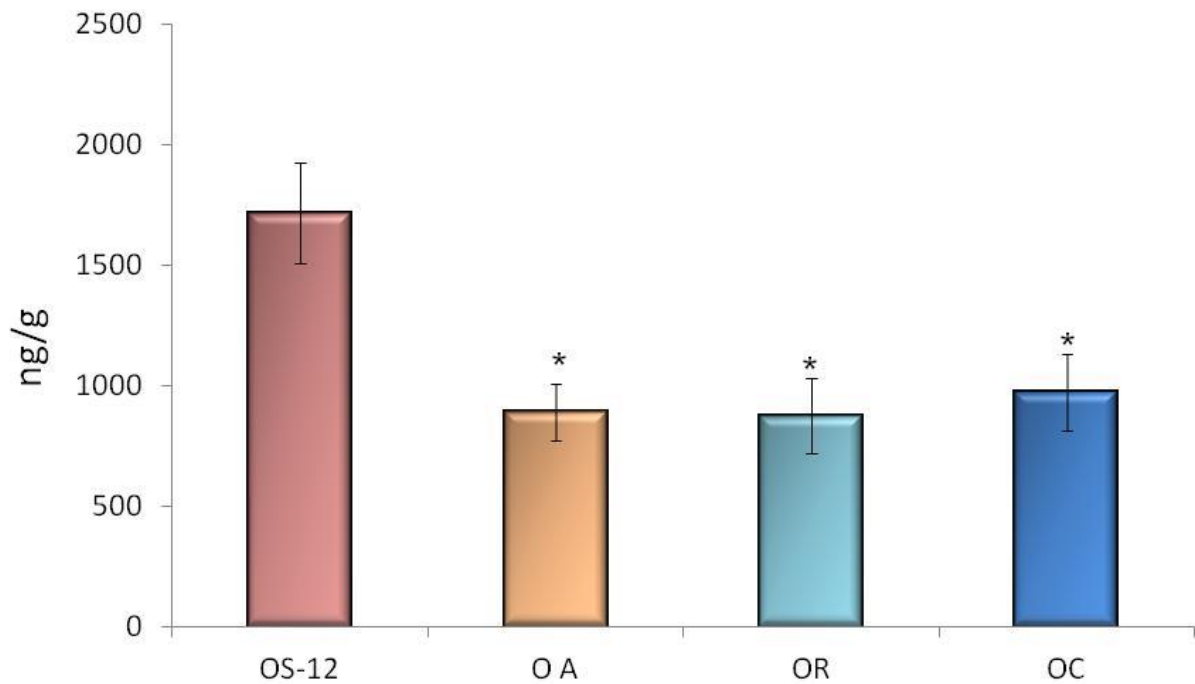


Figura 58. Dopamina no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.41 Angiotensinas

6.41.1. Tecido Adiposo

Em relação às angiotensinas dosadas no tecido adiposo, observamos que a angiotensina 1-7 (Figura 59) estava reduzida no grupo OS-12 comparada aos demais grupos estudados. Adicionalmente, os grupos que realizaram treinamento na escada (OR e OC) apresentaram aumento de angiotensina 1-7 comparado ao grupo AO (Tabela 31).

O treinamento físico reduziu a angiotensina 2 (Figura 60), sendo que os grupos treinados (OA, OR e OC) foram menores que o grupo OS-12 (Tabela 31).

Tabela 31. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Angiotensina 1-7	Angiotensina 2
	(pmol/g)	(pmol/g)
OS-12	161±17	368±17
OA	223±20*	280±10*
OR	300±18*¥	261±22*¥
OC	298±12*¥	272±16*¥

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p<0,05 vs. OA.

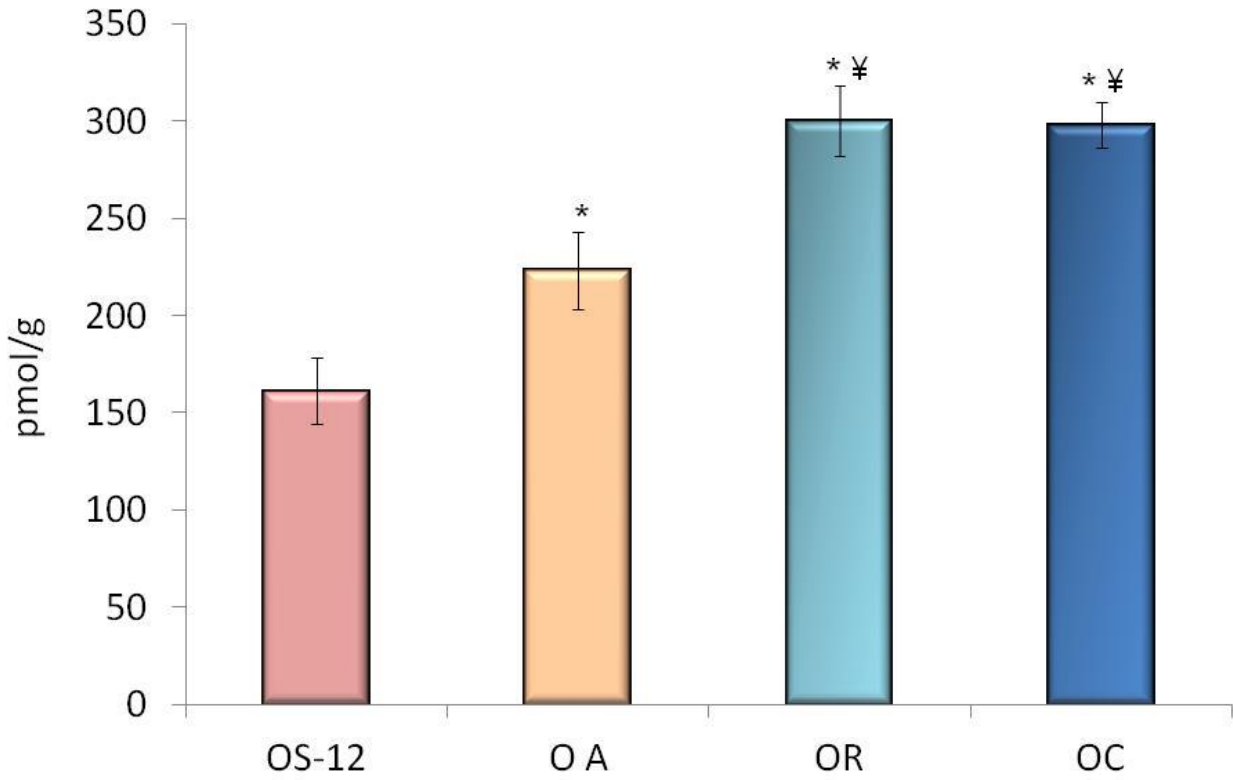


Figura 59. Angiotensina 1-7 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. OA.

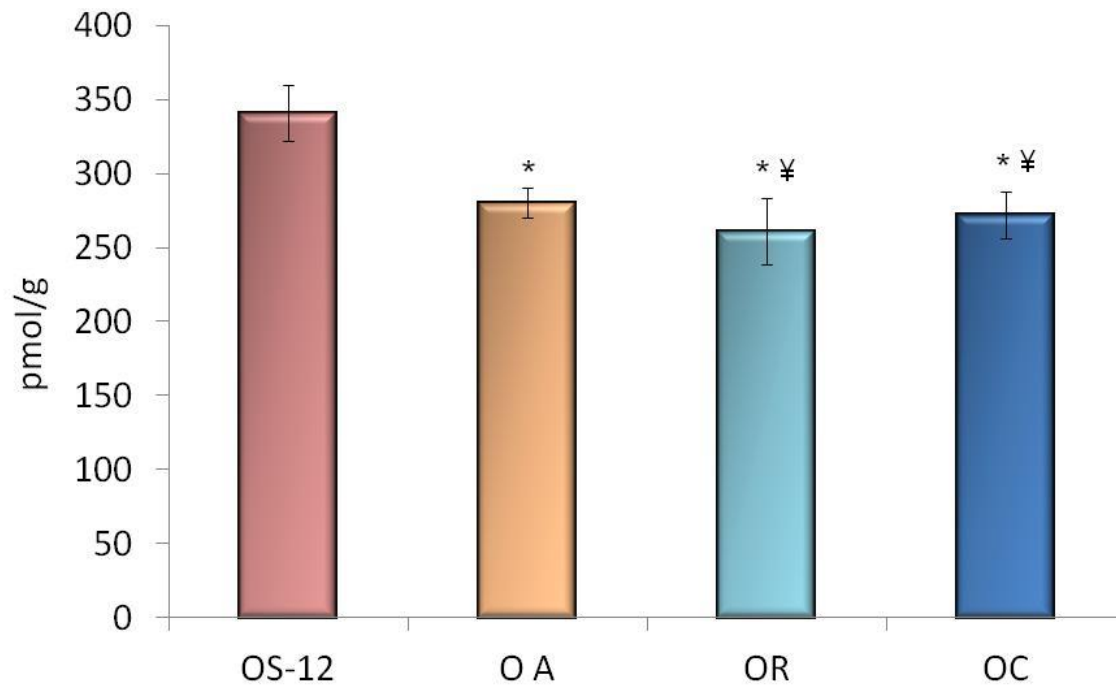


Figura 60. Angiotensina 2 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. OA.

6.41.2. Rim

Os grupos treinados apresentaram aumento da angiotensina 1-7 (Figura 61) e redução da angiotensina 2 (Figura 62) renal quando comparados ao grupo OS-12 (Tabela 32).

Tabela 32. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Angiotensina 1-7	Angiotensina 2
	(pmol/g)	(pmol/g)
OS-12	230±23	321±24
OA	288±15*	209±11*
OR	340±11*	203±6*
OC	314±19*	205±24*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p<0,05 vs. OA.

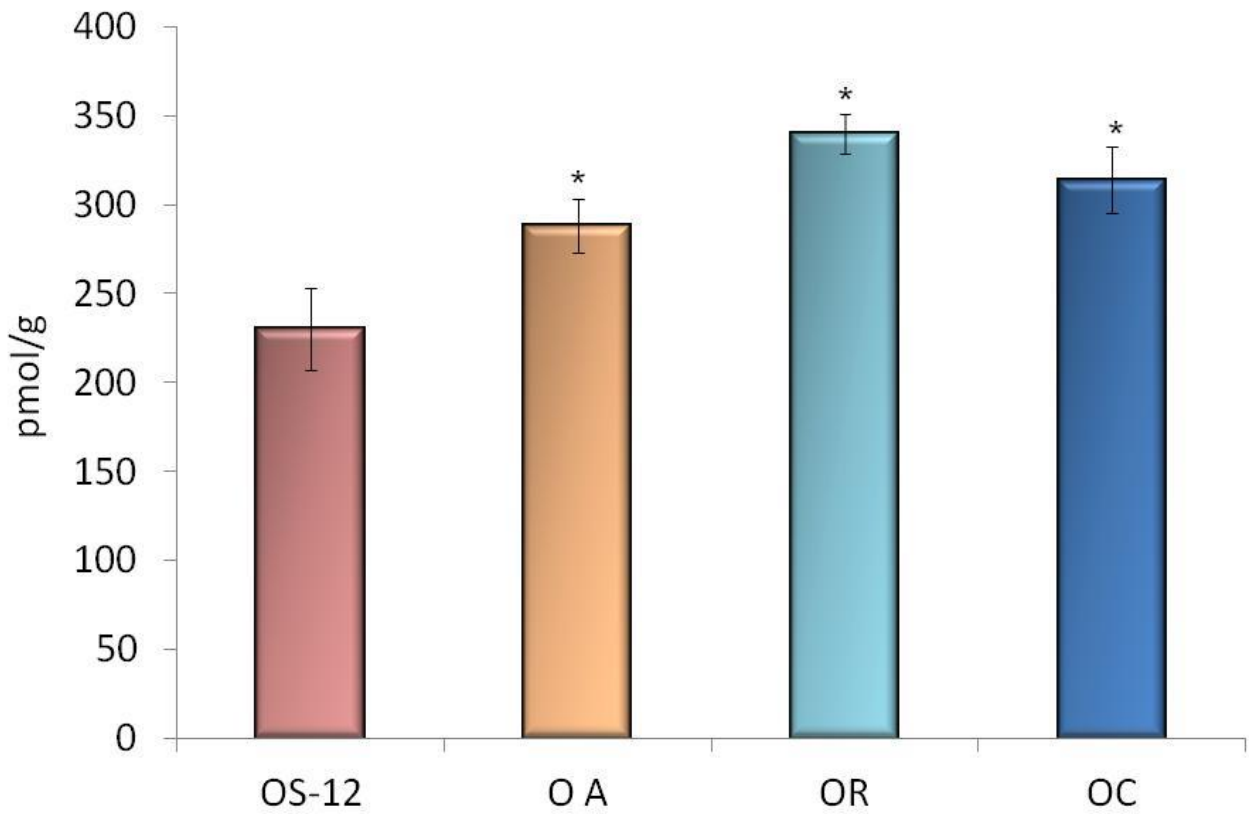


Figura 61. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

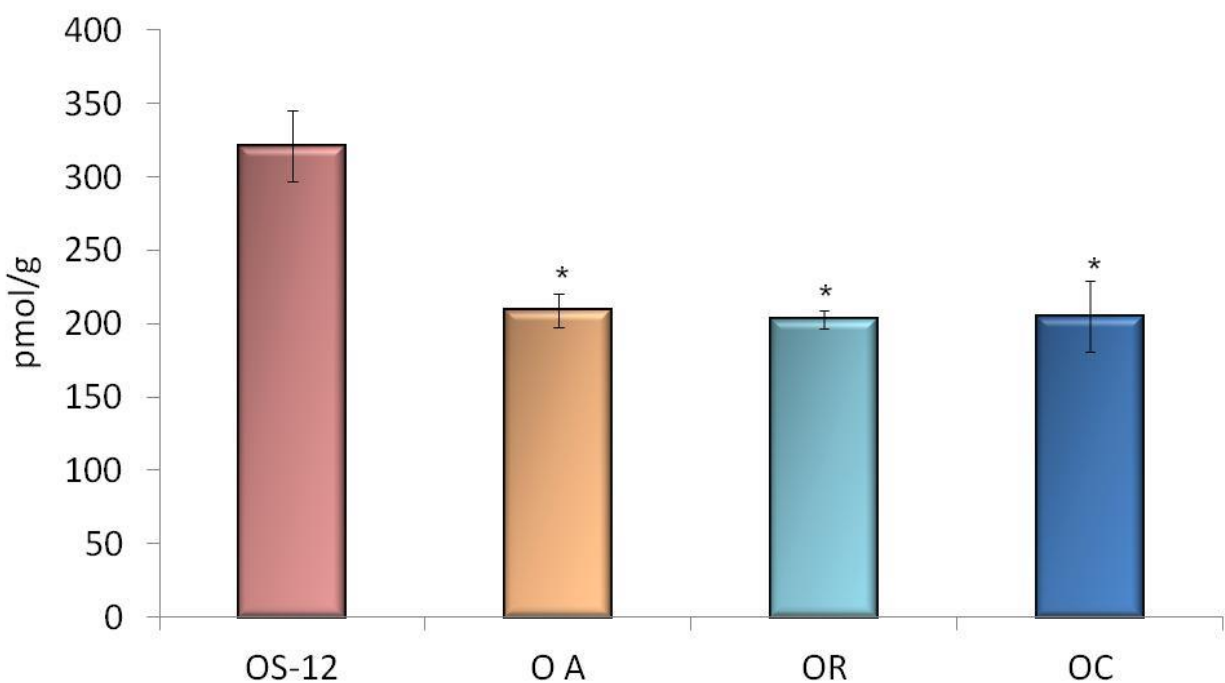


Figura 62. Angiotensina 1-7 no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.41.3. Ventrículo Esquerdo

No ventrículo esquerdo, observamos aumento da angiotensina 1-7 nos grupos treinados (OA, OR e OC) comparados ao grupo OS-12. Além disso, o grupo OC apresentou maiores valores de angiotensina 1-7 quando comparado ao grupo OA (Figura 63, Tabela 33).

Em relação à angiotensina 2, observamos que o treinamento físico, independente do tipo, reduziu os valores nos grupos treinados comparado ao grupo que permaneceu sedentário (Figura 64, Tabela 33).

Tabela 33. Angiotensina 1-7 e angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbico (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Angiotensina 1-7	Angiotensina 2
	(pmol/g)	(pmol/g)
OS-12	232±14	294±10
OA	380±2*	187±14*
OR	413±22*	197±20*
OC	441±12*¥	212±9*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p<0,05 vs. OA.

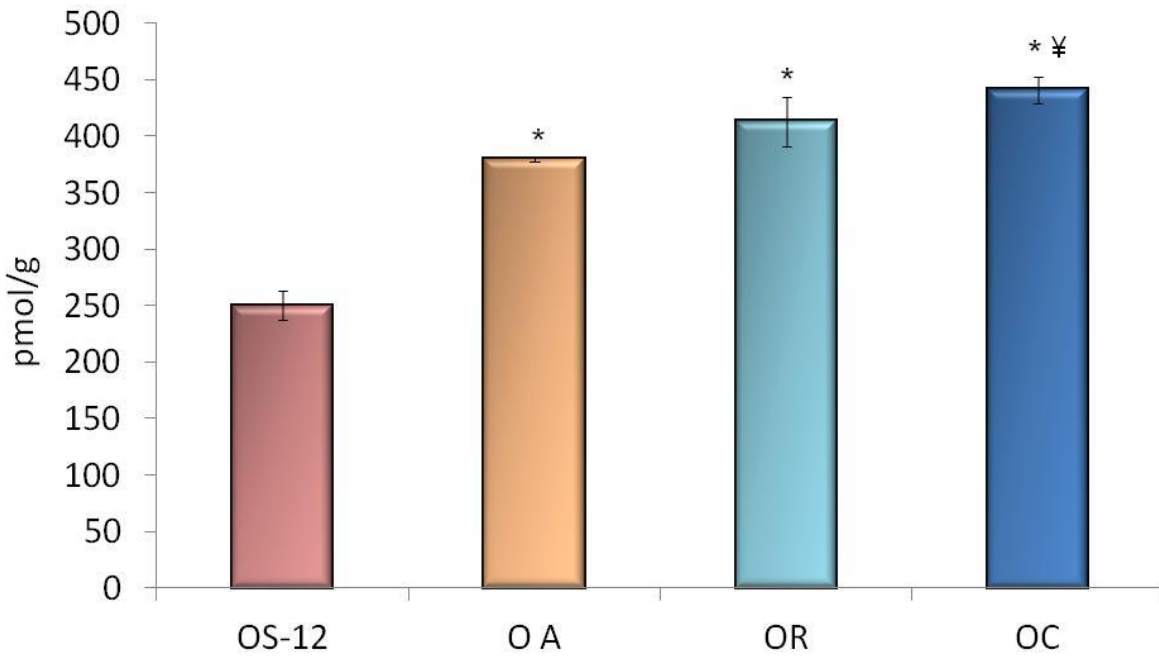


Figura 63. Angiotensina 1-7 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. OA.

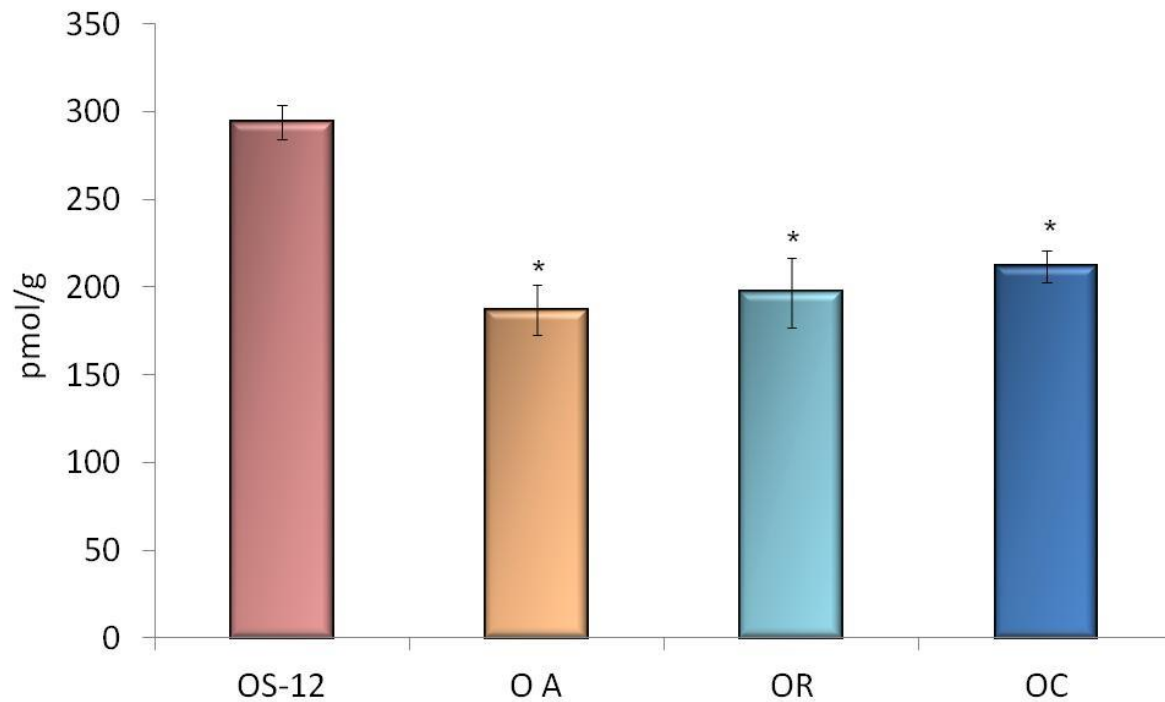


Figura 64. Angiotensina 2 no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.42. Adiponectina e Marcadores Inflamatórios

6.42.1. Tecido adiposo abdominal

Não observamos diferenças entre os grupos em relação à adiponectina, TNF alfa e IL-6 no tecido adiposo entre o grupo sedentário e os grupos treinados (Tabela 34, Figura 65).

Em relação ao PAI-1, observamos diminuição apenas no grupo que realizou o treinamento físico combinado (OC) quando comparado aos demais grupos estudados.

Tabela 34. Adiponectina, TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no tecido adiposo abdominal dos grupos, ob/ob sedentárias (OS-12, n=8), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Adiponectina (pg/ml)	TNF alfa (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	PAI-1 (pg/ml)
OS-12	140443±4472	18±1,4	141±16	4616±710
O A	151944±2529	20±1,5	111±9	3598±779
OR	140702±3132	20±0,5	132±14	4132±950
OC	149445±2740	19±1,0	115±8	1795±309*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12.

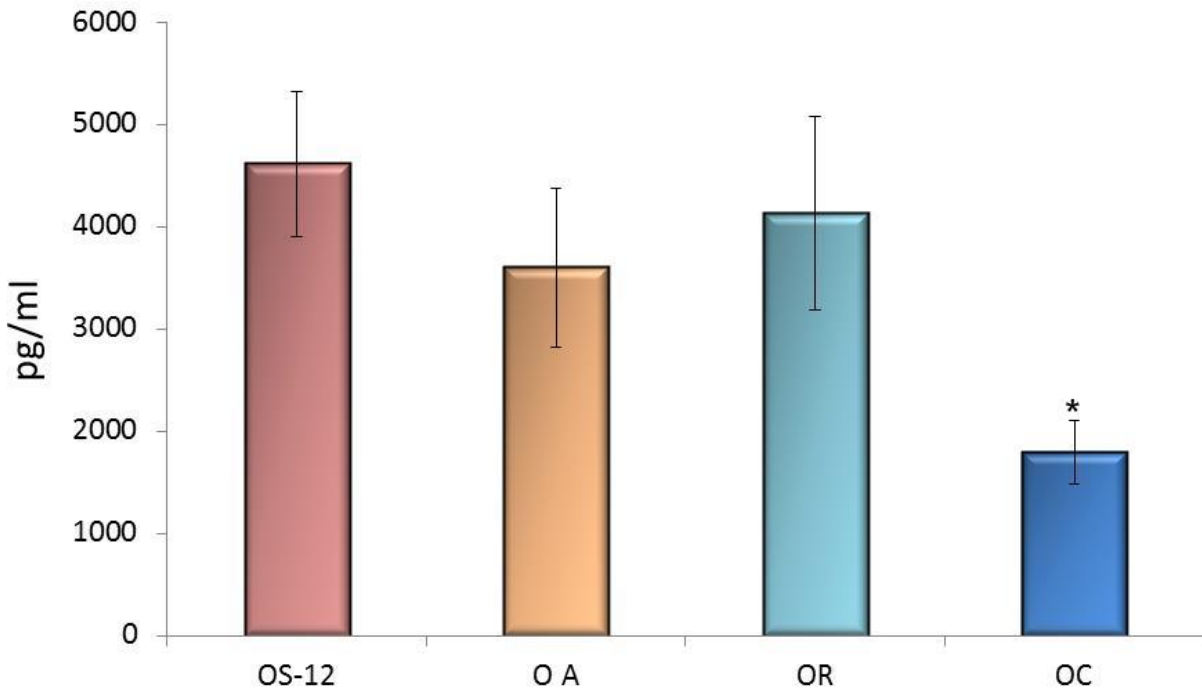


Figura 65. PAI - 1 no tecido adiposo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.42.2. Baço

Os grupos que realizaram treinamento em esteira (OA e OC) apresentaram aumento da adiponectina no baço em comparação ao grupo obesa sedentária e obesa treinamento resistido (OR) (Tabela 35, Figura 66).

Não observamos diferenças no TNF alfa entre os grupos estudados (Tabela 35). Em relação a IL-6 no baço, houve um aumento no grupo OR comparado ao grupo OA. Apenas o treinamento combinado foi eficaz em reduzir a IL-6 quando comparado ao treinamento resistido e ao grupo de obesas sedentárias (Tabela 35, Figura 67).

Em relação ao PAI-1 no baço, observamos que o grupo OR apresentou aumento dessa variável em relação ao grupo SS e em relação ao grupo OA. Adicionalmente, o grupo OC apresentou redução do PAI-1 em comparação ao grupo OS-12 e ao grupo OR (Tabela 35, Figura 68).

Tabela 35. Adiponectina, TNF alfa, IL-6 e PAI-1 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Adiponectina (pg/ml)	TNF alfa (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	PAI-1 (pg/ml)
OS-12	11538±867	96±4	380±52	3706±723
OA	21613±2362 *	114±13	235±57	3078±570
OR	11084±650 ¥	106±13	505±106 ¥	7539±2537 *¥
OC	18408±546 *†	111±15	141±26 *†	1125±190 *¥†

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12, ¥ p<0,05 vs. OA, † p< vs. OR.

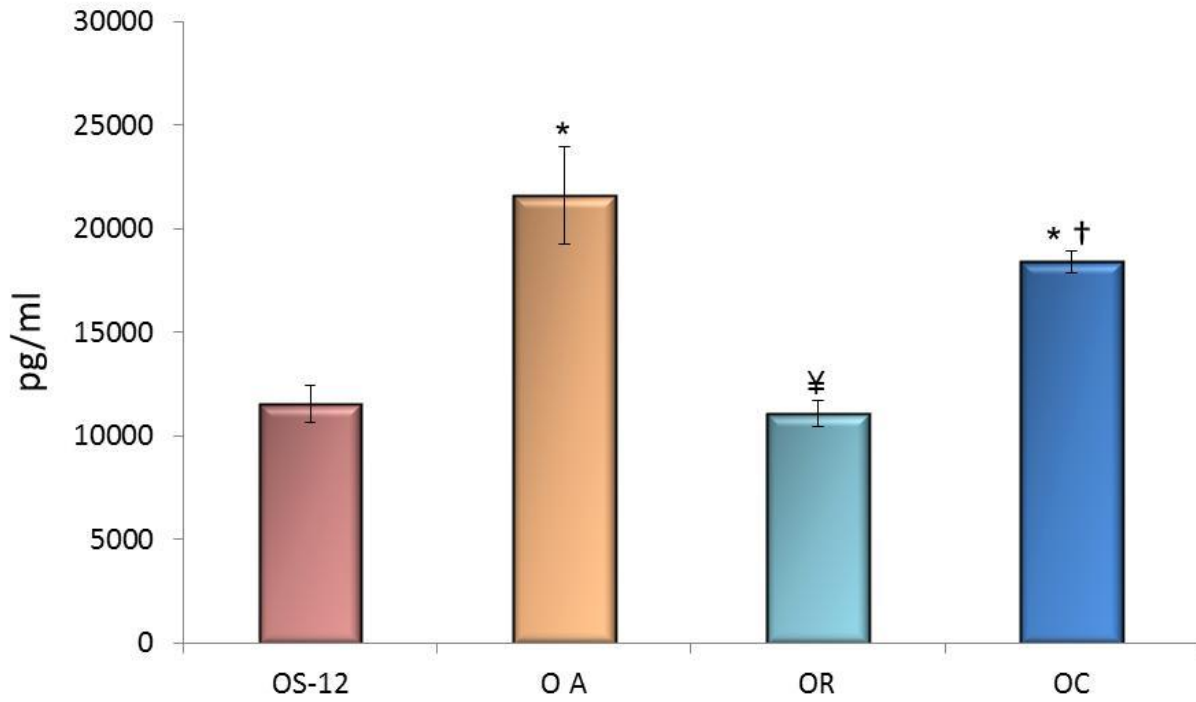


Figura 66. Adiponectina no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ‡ $p < 0,05$ vs. OA, † $p < 0,05$ vs. OR.

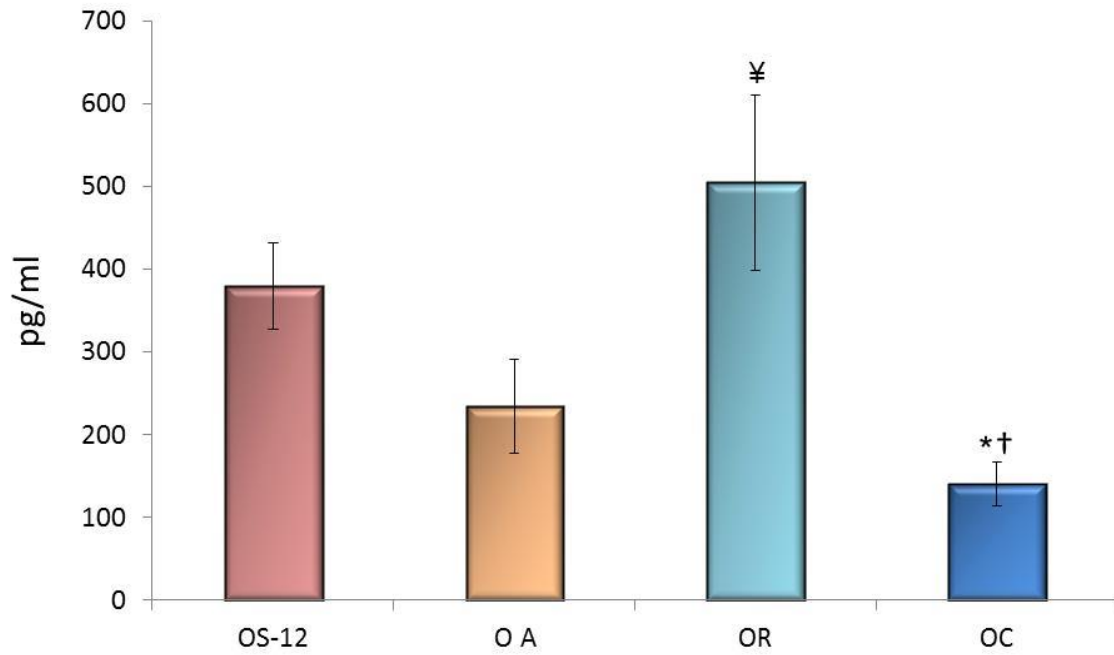


Figura 67. IL-6 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ‡ $p < 0,05$ vs. OA, † $p <$ vs. OR.

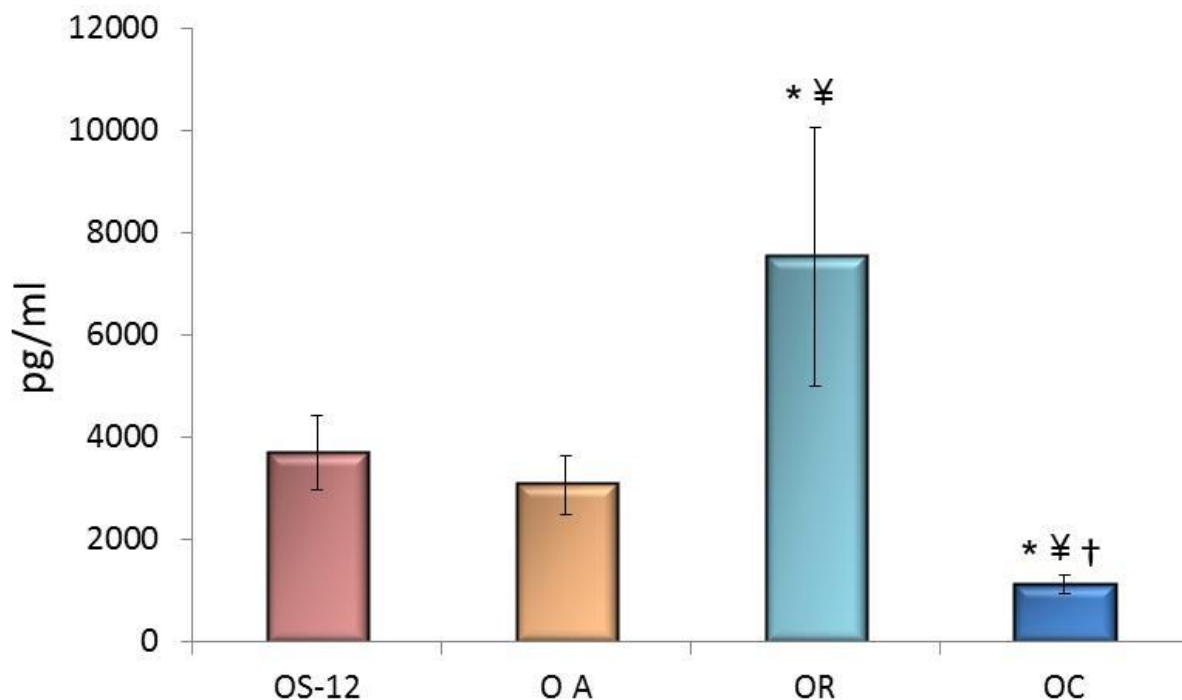


Figura 68. PAI-1 no baço dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12, ¥ $p < 0,05$ vs. OA, † $p < 0,05$ vs. OR.

6.43. Estresse Oxidativo

6.43.1 Rim

As proteínas oxidadas (carbonilas) apresentaram aumento no grupo obesas sedentárias (OS-12) quando comparado aos demais grupos de obesas que foram submetidas aos protocolos de treinamento físico (Tabela 28, Figura 69). Resultados semelhantes foram observados em relação a lipoperoxidação (TBARS), no qual pudemos observar que os grupos treinados apresentaram redução do TBARS em relação ao grupo OS-12 (Tabela 36, Figura 70).

Não houve diferença na SOD entre os grupos. Houve aumento na CAT nos grupos treinados em relação ao grupo sedentário (Tabela 36). Em relação à GPx, observamos diminuição nos grupos treinados quando comparados ao grupo obesas sedentárias (OS-12) (Tabela 36).

Tabela 36. Parâmetros de estresse oxidativo no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Carbonilas (nmol/ mg proteína)	TBARS (umoles/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)	GPx (umol/min/mg proteína)
OS-12	8±0,5	11,0±1,0	18±1	2,1±0,2	0,067±0,005
OA	2±0,6*	6,4±0,7*	16±1	2,9±0,2*	0,049±0,002*
OR	3±0,6*	5,5±0,7*	14±1	2,9±0,1*	0,052±0,002*
OC	2±0,4*	6,6±1,5*	16±2	3,0±0,3*	0,052±0,005*

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12.

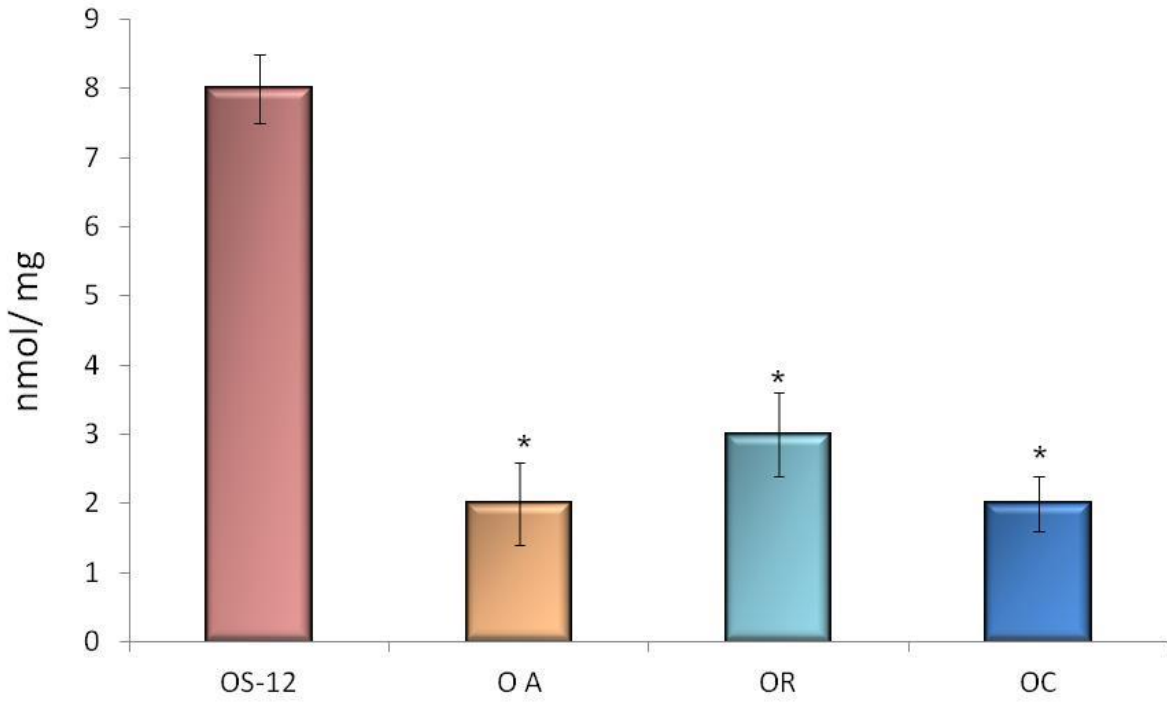


Figura 69. Proteínas carboniladas no rim dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

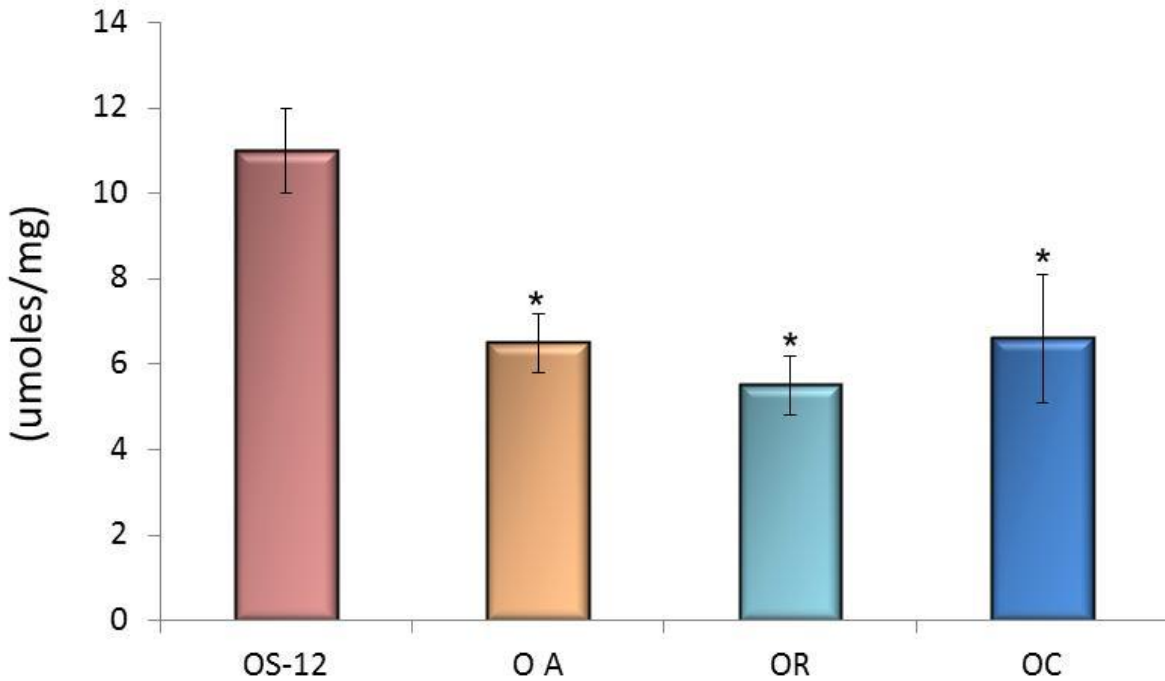


Figura 70. TBARS no rim dos grupos ob/ob sedentária (OS-12), ob/ob treinamento aeróbico (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

6.43.2. Ventrículo Esquerdo

Em relação às proteínas oxidadas (carbonilas), os grupos treinados, independente do tipo de treinamento físico, apresentaram redução dessa variável em relação ao grupo que permaneceu sedentário (Tabela 37, Figura 71). A lipoperoxidação (TBARS) estava reduzida nos grupos treinados em comparação ao grupo OS-12 (Tabela 37, Figura 72).

Não observamos diferenças entre os grupos em relação à SOD e à CAT no ventrículo esquerdo (tabela 37).

Tabela 37. Parâmetros de estresse oxidativo no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12, n=6), ob/ob treinamento aeróbio (OA, n=6), ob/ob treinamento resistido (OR, n=6) e ob/ob treinamento combinado (OC, n=6).

	Carbonilas (nmol/ mg proteína)	TBARS (umoles/mg proteína)	SOD (USOD/mg proteína)	CAT (nmol/mg proteína)
OS-12	4,3±0,4	5,7±0,3	10±1,4	0,3±0,03
OA	3,0±0,4*	3,7±1,0*	9±1,9	0,4±0,06
OR	3,3±0,5*	2,8±0,2*	9±1,2	0,3±0,02
OC	3,0±0,4*	3,6±0,8*	9±1,2	0,4±0,05

Valores representando média ± erro padrão. * p< 0,05 vs. OS-12.

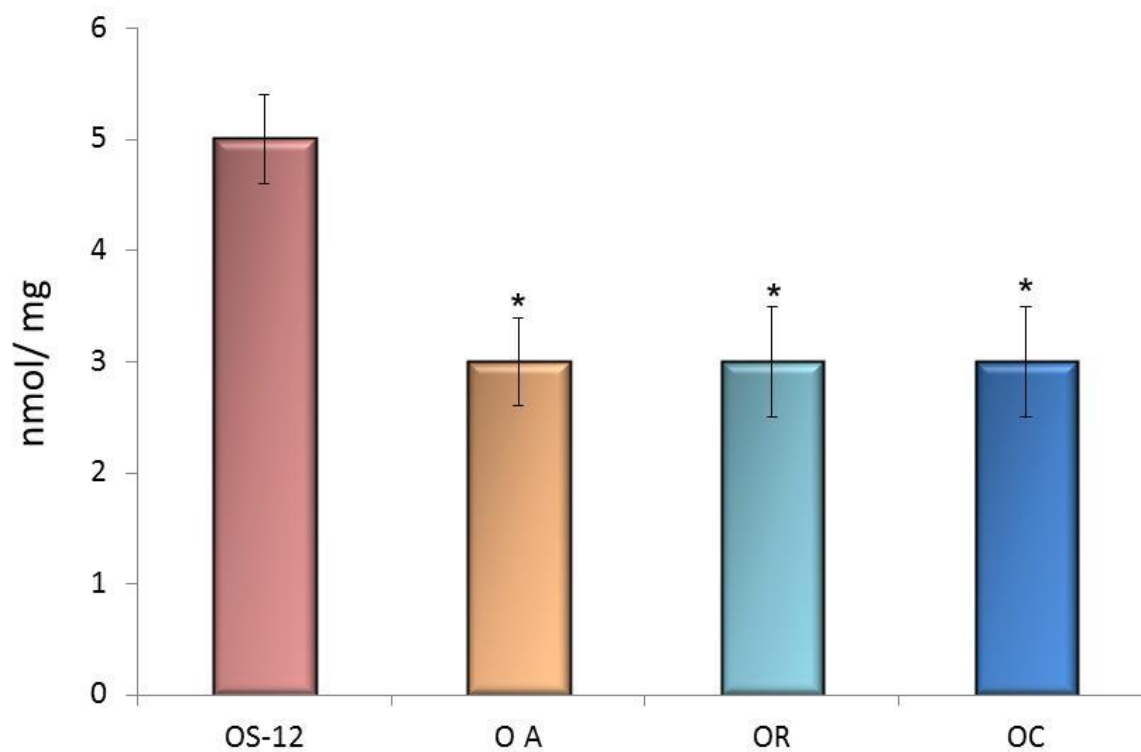


Figura 71. Proteínas carboniladas no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

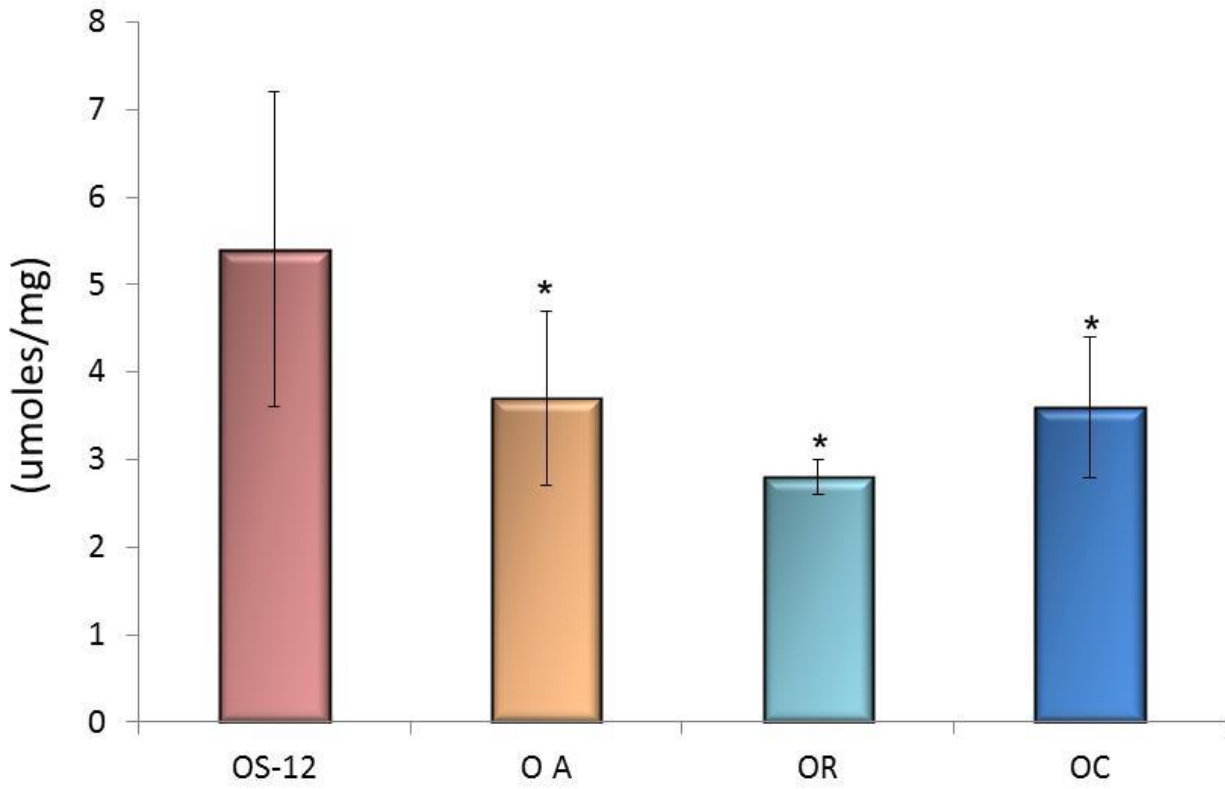


Figura 72. TBARS no ventrículo esquerdo dos grupos ob/ob sedentárias (OS-12), ob/ob treinamento aeróbio (OA), ob/ob treinamento resistido (OR) e ob/ob treinamento combinado (OC). * $p < 0,05$ vs. OS-12.

7. DISCUSSÃO

ESTUDO 1

O objetivo do estudo 1 foi avaliar os efeitos metabólicos, hemodinâmicos, autonômicos, de EO, inflamação e hormonais do DM tipo 2 em um modelo de camundongos obesos.

A obesidade é um problema de saúde pública e sua prevalência vem aumentando de forma alarmante nos últimos anos (KUCZMARSKI, 1992; KUSKOWSKA-WOLK & BERGSTROM, 1993). Torna-se, portanto, cada vez mais importante estudar a obesidade e suas consequências para a saúde. Já está bem claro na literatura que a obesidade está associada ao surgimento de outros fatores de risco como hipertensão, DM e DCV (MANSON *et al.*, 1990; MYKKANEN *et al.*, 1992). Corroborando com esses achados, os resultados desse estudo evidenciaram o aumento da glicemia, de triglicérides e da intolerância à glicose no grupo obeso em comparação ao grupo selvagem. Adicionalmente, observamos diminuição da capacidade de exercício em esteira e da força máxima, diminuição da sensibilidade barorreflexa e da VFC, além de aumento da inflamação e de parâmetros de EO no grupo obeso em comparação ao grupo selvagem.

O camundongo ob/ob tem como característica a hiperfagia causada pela ausência de leptina (COLEMAN, 1978; ZHANG *et al.*, 1994). Dessa forma, ao longo do tempo, camundongos ob/ob aumentam o peso corporal de forma significativa. Em nosso estudo, observamos que já nas primeiras semanas de vida, os animais ob/ob apresentam aumento de peso corporal em comparação aos animais selvagens. Também pudemos observar ao longo das 8 semanas de estudo, um expressivo aumento de peso corporal nos animais obesos quando comparados aos animais selvagens, resultado esse já esperado pela característica do modelo estudado.

Como comentado anteriormente, a obesidade é vista como um dos maiores problemas de saúde, aumentando significativamente o risco de desenvolver diversas doenças, incluindo desordens musculoesqueléticas (JAMES, 1995; MUST *et al.*, 1999). Pacientes obesos apresentam diminuição do nível de atividade da vida diária além de diminuição da capacidade de caminhar (WEARING *et al.*, 2006). Em nosso estudo observamos que já no início do protocolo, o grupo obeso apresentou redução da capacidade de exercício na esteira. Após as 8 semanas de protocolo, essa diferença entre os animais obesos e selvagens se exacerbou, sendo que o grupo obeso apresentou redução no teste de esforço em esteira quando comparado com ele mesmo no início do protocolo. Essa piora no desempenho aeróbio pode estar relacionada ao aumento significativo do peso corporal durante o protocolo que ocorreu no grupo obeso, o que pode tornar mais difícil a execução do movimento na esteira, bem como as alterações musculares. De fato, no presente estudo houve redução da massa do músculo sóleo, com predominância de fibras lentas (tipo I), e da massa do músculo plantar, com predominância de fibras rápidas (tipo IIB), no grupo OS-12 em relação ao grupo SS.

Os prejuízos causados pela obesidade também podem ser vistos na força muscular. Apesar de pacientes obesos poderem apresentar maior força absoluta (MIYATAKE *et al.*, 2000; HULENS *et al.*, 2003), quando a força é normalizada pelo peso corporal, os pacientes obesos podem apresentar diminuição significativa na força (~16%) quando comparados a sujeitos com peso normal (BLIMKIE *et al.*, 1990; MIYATAKE *et al.*, 2000). De fato, observamos que, de forma similar ao teste de esteira, os animais obesos já apresentaram redução da força máxima desenvolvida no teste em escada em relação aos animais selvagens na primeira semana de protocolo. Adicionalmente, o grupo obeso apresentou diminuição da força no final do protocolo quando comparado aos seus valores no início do protocolo. Da mesma forma que na performance aeróbia, a diminuição da força

muscular já era esperada pelo grande ganho de peso que os animais apresentaram durante o protocolo.

O camundongo ob/ob é conhecido por ser um bom modelo de DM tipo 2 por apresentar características semelhantes a pacientes com essa doença, como hiperglicemia e resistência à insulina, além de manifestarem características de neuropatia periférica diabética (OZATA *et al.*, 1999; HASTY *et al.*, 2001; DREL *et al.*, 2006; JI *et al.*, 2010). Em nosso estudo observamos resultados semelhantes aos já descritos na literatura. Os animais obesos apresentaram aumento, não apenas da glicemia, como também aumento da intolerância à glicose. O DM é uma doença associada a alterações endócrinas que interferem no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Essas alterações resultam na elevação plasmática de glicose, desencadeando um estado de hiperglicemia de jejum, ocasionado principalmente pela secreção deficiente ou ausente de insulina, associada a graus variados de resistência dos tecidos periféricos a ação deste hormônio (JUNOD *et al.*, 1967; YAGIHASHI, 1995). Esses resultados têm uma grande importância clínica, pois foi demonstrado que a glicemia alterada pode estar associada à maior frequência de DCV (SANCHES, 2005).

Com relação aos parâmetros cardiovasculares, não foram observadas diferença em relação à PA e a FC, apesar de alguns estudos em nosso grupo demonstrarem aumento da PA em modelos de síndrome metabólica (BRITO *et al.*, 2008; DE ANGELIS *et al.*, 2012). De fato, um estudo anterior que caracterizou o camundongo ob/ob não demonstrou alteração da PA. Os autores sugeriram que a manutenção da PA poderia estar relacionada ao fato desses animais apresentarem redução da atividade nervosa simpática (YOUNG *et al.*, 1985).

Outra complicação frequente observada em modelos de DM é a neuropatia autonômica. Além de serem frequentes, as alterações na modulação autonômica têm um papel importante nas complicações da doença, pois estão associadas com alta mortalidade e morbidade em pacientes

sintomáticos (EWING *et al.*, 1980). Essa disfunção no controle autonômico pode afetar a modulação do nodo sinusal, reduzindo a VFC. Em ratos diabéticos por STZ, foi observada diminuição da VFC associada a reduções das bandas de alta e baixa frequência (FAZAN *et al.*, 1997). De fato, em nosso estudo, nós demonstramos que os animais obesos apresentaram redução da VFC e das bandas de baixa e alta frequência. A reduzida VFC observada em nosso estudo pode representar uma má condição de adaptação, o que pode indicar aumento do risco cardiovascular (PUMPRLA *et al.*, 2002).

É importante lembrar que o estudo da VFC e da VPA, é uma forma de avaliar o controle autonômico, e reflete a interação de diversos fatores que, em sua maioria, envolvem uma influência do sistema nervoso autônomo sobre o aparelho cardiovascular (JOAQUIM, 2005). Hoje se sabe que irregularidades nas VFC e da VPA significam algum tipo de anormalidade, e que a diminuição da VFC representa um mau prognóstico (RIBEIRO & MORAES FILHO, 2005). De fato, estudos experimentais e clínicos vêm demonstrando que a disautonomia (disfunções no sistema nervoso autônomo) está presente em uma série de patologias, tais como a hipertensão arterial, a insuficiência cardíaca, o DM e outras alterações metabólicas (DE ANGELIS *et al.*, 2004). No DM o comprometimento autonômico é uma complicação frequente, que acomete ambos os ramos do sistema nervoso autônomo, manifestando-se, entre outras formas, pela diminuição da VFC, a qual está associada com aumento da mortalidade (RIBEIRO & MORAES FILHO, 2005). Por outro lado, o aumento da VFC pode ser vista de forma benéfica, refletindo uma boa capacidade de adaptação.

Prejuízos na sensibilidade barorreflexa também têm sido demonstrados em ratos diabéticos (MAEDA *et al.*, 1995; DE ANGELIS *et al.*, 2002). Em nosso estudo, observamos diminuição da sensibilidade barorreflexa no grupo obeso nas respostas taquicárdicas e bradicárdicas nas avaliações induzidas por drogas. A menor habilidade para modular adequadamente a FC durante mudanças na

PA tem sido atribuída a algumas alterações na atividade cardíaca parassimpática (MAEDA *et al.*, 1995; DE ANGELIS *et al.*, 2002). Porém, mudanças na função dos receptores atriais muscarínicos (CARRIER & ARONSTAM, 1987) ou na mediação central do reflexo barorreceptor também podem estar associados a menor sensibilidade do barorreflexo. Vale lembrar que os pressorreceptores arteriais são mecanorreceptores sensíveis às deformações da parede vascular responsáveis pelo controle da PA em curto prazo, ou seja, momento a momento (IRIGOYEN, 2003). Além do controle reflexo da atividade autonômica, os pressorreceptores também exercem controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação). Assim, o comprometimento da função dos pressorreceptores pode atuar como elemento permissivo ao estabelecimento de alterações primárias de outros mecanismos de controle da função cardiovascular, por não modular a atividade simpática e parassimpática adequadamente (IRIGOYEN *et al.*, 1995).

O sistema nervoso também modula as funções do tecido adiposo através de mecanismos celulares e moleculares (ROMIJN & FLIERS, 2005). As ações metabólicas no tecido adiposo são controladas através da interação do sistema nervoso simpático e parassimpático (ROHNER-JEANRENAUD & JEANRENAUD, 1983). A lipólise do tecido adiposo, por exemplo, é controlada pelo sistema nervoso simpático (TAVERNIER *et al.*, 2005), sendo as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) consideradas um dos mais importantes mecanismos regulatórios (BARTNESS & SONG, 2007). As catecolaminas são os únicos hormônios com ação lipolítica. Na obesidade, é provável que ocorra resistência a ação das catecolaminas no tecido adiposo (ARNER, 1999). A resistência às catecolaminas pode ser vista precocemente na obesidade (BOUGNERES *et al.*, 1997). No presente estudo houve grande variabilidade na análise das catecolaminas, o que provavelmente está associado ao fato de não termos observado diferenças estatísticas em relação às catecolaminas entre os camundongos fêmeas magras e obesas. Todavia, a média da noradrenalina no tecido adiposo

do grupo SS foi praticamente o dobro da média do grupo OS-12, sugerindo redução desta catecolamina lipogênica neste modelo experimental, o que poderia estar associado ao aumento do tecido adiposo observado nos animais ob/ob. Todavia, seriam necessárias outras análises para investigar se nos camundongos obesos ocorre resistência às catecolaminas, a fim de obtermos um melhor entendimento desses resultados. Vale ressaltar que a ação das catecolaminas no tecido adiposo é diferente em relação ao gênero, sendo que a lipólise nos homens é maior do que a observada nas mulheres (LONNQVIST *et al.*, 1990).

Em relação as angiotensinas, observamos que o grupo obeso apresentou ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina no rim em relação ao grupo selvagem, demonstrado por aumento da angiotensina 2 e diminuição de angiotensina 1-7 no grupo OS-12 comparado ao grupo SS. A angiotensina 2 e a angiotensina 1-7 desempenham um importante papel em doenças crônicas como hipertensão renovascular e insuficiência cardíaca crônica (CAMPAGNARO *et al.*, 2012). O desequilíbrio entre essas angiotensinas dentro do sistema renina angiotensina tecido específico (sistema nervoso central e periférico, renal e cardíaco) influencia na perda da função dos mecanismos de ajuste da PA. Em ambas as patologias, observa-se a perda de sensibilidade do barorreflexo e um desbalanço dos sistemas autônomos simpático e parassimpático. Acredita-se que a angiotensina 2 e a angiotensina 1-7 desempenhem um papel importante tanto na perda da sensibilidade barorreflexa quanto no desbalanço autonômico (JORGE, L. *et al.*, 2011; CAMPAGNARO *et al.*, 2012). Em nosso estudo, apesar de não observarmos diferenças entre os grupos SS e OS-12 em relação a pressão arterial, de fato, os animais obesos apresentaram diminuição da sensibilidade barorreflexa somada ao aumento da angiotensina 2.

Em pacientes com HIV, a ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina foi relacionada ao aumento da resistência à insulina (SRINIVASA *et al.*, 2015). Em nosso estudo,

observamos resultados semelhantes, uma vez que os camundongos obesos apresentaram diminuição da tolerância à glicose e aumento da glicose sanguínea, além de aumento da angiotensina 2 no rim e no ventrículo esquerdo.

É interessante notarmos que no ventrículo, os camundongos obesos apresentaram aumento de angiotensina 2, mas também apresentam aumento de angiotensina 1-7. Em um estudo de Silva et al, no qual os autores compararam o efeito do treinamento físico em ratos hipertensos, foi observado que o treinamento físico levou a maiores adaptações na artéria renal em comparação a outros tecidos estudados. Além disso, os autores também observaram que em alguns tecidos, o treinamento físico levou a redução da angiotensina 2 e da angiotensina 1-7 (SILVA *et al.*, 2015). Portanto, é possível que em alguns tecidos, em resposta a diferentes situações fisiológicas e/ou patológicas, não sejam observadas alterações no balanço do eixo do sistema renina angiotensina, mas sim apenas ajustes desse sistema para níveis mais baixos (ou mais altos).

Adicionalmente, em um estudo recente, foi demonstrado que o tratamento com inibidor do receptor da angiotensina 2 facilitou a regeneração tecidual em camundongos diabéticos (KAMBER *et al.*, 2015), demonstrando que a ativação do sistema renina angiotensina observada nos animais obesos pode levar a outros prejuízos que podem aumentar o risco de complicações associadas ao diabetes e a obesidade. Neste sentido, sabe-se que há uma estreita relação entre o sistema renina angiotensina e a modulação autonômica. Dessa forma, os resultados encontrados em nosso estudo que demonstram maior ativação do eixo constritor desse sistema (em especial no rim), podem estar relacionados ao maior risco de disfunções na modulação autonômica. Disfunções na modulação autonômica são relacionadas a um maior risco na população em geral e também em pacientes com DM. Além disto, a ativação do sistema renina angiotensina leva a ativação do receptor AT1 que, por sua vez, leva a vasoconstrição de arteríolas, resultando na diminuição do fluxo sanguíneo podendo

afetar a filtração glomerular. Esse prejuízo na filtração glomerular aumenta a produção de citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, levando ao aumento de estresse oxidativo (DZAU & RE, 1994; Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996; NONOGAKI, 2000). Neste sentido, os resultados do presente estudo evidenciam aumento de marcadores de estresse oxidativo em tecido renal.

Somado a isso, estudos evidenciam que o vago pode modular a resposta inflamatória e o EO em algumas situações fisiopatológicas (BOROVIKOVA *et al.*, 2000; VAN GAAL *et al.*, 2006). Além disso, os monócitos desempenham um papel importante na inflamação, na diferenciação de células T, na fagocitose e na imunidade inata (GEISSMANN *et al.*, 2010; NAHRENDORF *et al.*, 2010). No presente estudo optamos por avaliar o perfil inflamatório em baço e tecido adiposo. O baço é um importante órgão regulador da função neuroimune, possibilitando inferências sobre a influência da modulação autonômica sobre a liberação de citocinas inflamatórias (BOROVIKOVA *et al.*, 2000). Com relação ao tecido adiposo, vale lembrar que esse tecido por ser considerado um órgão endócrino ativo e parácrino que libera uma grande quantidade de citocinas e mediadores bioativos, tais como leptina, IL-6 e TNF alfa (VAN GAAL *et al.*, 2006; LAU, 2010). Além disso, o tecido adiposo possui um papel importante em diversas funções do organismo, atuando através da produção de hormônios e citocinas envolvidas no metabolismo da glicose e lipídico, inflamação e PA, atuando direta e indiretamente em vários outros tecidos e órgãos. Dessa forma, é possível que disfunções autonômicas possam estar envolvidas em disfunções na produção de hormônios e citocinas sintetizadas pelo tecido adiposo. Somado a isso, o sistema nervoso simpático inerva o baço e um aumento em sua modulação pode estar relacionado ao aumento do estado pró inflamatório (WILLIAMS *et al.*, 2007).

Em nosso estudo verificamos uma diminuição da adiponectina (tecido adiposo e baço) e aumento de TNF alfa (baço), IL-6 (baço) e PAI-1 (tecido adiposo e baço) nos animais obesos comparados aos animais selvagens, demonstrando um estado inflamatório nos animais ob/ob. Estas alterações podem influenciar negativamente a homeostase da glicose e dos lipídeos, da PA, de coagulação, de fibrinólise e de inflamação, que podem conduzir à disfunção endotelial e a aterosclerose (VAN GAAL *et al.*, 2006; LAU, 2010).

A adiponectina exerce um papel benéfico em pacientes diabéticos tipo 2, pois está relacionada ao aumento da sensibilidade à insulina em diversos tecidos (TAPSELL *et al.*, 2004). Correlações positivas entre adiponectina e diminuição da resistência à insulina já foram previamente demonstradas (TAPSELL *et al.*, 2004). Em contrapartida, a IL-6 e o PAI-1 estão diretamente relacionados ao DM. A IL-6 por exemplo, estimula a inibição da ação da insulina, levando ao aumento da glicose (FERNANDEZ-REAL & RICART, 2003; CARVALHO *et al.*, 2006). Além disso, a IL-6 interfere no efeito anti-inflamatório da insulina e também pode provocar a inibição da transdução da sinalização da insulina (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1994; MONTANI *et al.*, 2002; DANDONA *et al.*, 2004). A ação da IL-6 pode ser considerada uma via de mão dupla, uma vez que, os níveis elevados de IL-6 podem ser considerado como preditores da resistência à insulina e da disfunção endotelial e conseqüentemente podem estar envolvidos no desenvolvimento do DM tipo 2 (KAJITANI *et al.*, 2010).

Por sua vez, o PAI-1 tem sido associado ao aumento nas concentrações de insulina e diminuição da sensibilidade à insulina (JUHAN-VAGUE *et al.*, 1991; ASPLUND-CARLSON *et al.*, 1993; POTTER VAN LOON *et al.*, 1993). Além disso, Juhan-Vague et al. (JUHAN-VAGUE *et al.*, 1991) sugerem que o aumento nas concentrações do PAI-1 possa ser a ligação entre resistência à insulina e doença coronariana. Dessa forma, em nosso estudo é provável que os resultados

encontrados no aumento da glicose, dos triglicérides e da intolerância à glicose observada no grupo obeso, esteja relacionada à diminuição da adiponectina e ao aumento da IL-6, TNF alfa e do PAI-1.

Somado a isso, é interessante notarmos que em mulheres com doença coronariana o aumento do estado pró inflamatório teve correlação com a diminuição da VFC (JANSZKY *et al.*, 2004). Apesar de não realizarmos a correlação entre os resultados, em nosso estudo o grupo OS-12 apresentou redução da VFC somado à diminuição da adiponectina e aumento de citocinas pró inflamatórias.

Além de aumento do perfil inflamatório nos animais obesos, observou-se no coração e nos rins, tecidos importantes na regulação cardiovascular, uma diminuição da capacidade antioxidante juntamente com o aumento de lesão, demonstrado por aumento da peroxidação lipídica (TBARS) e das proteínas oxidadas, no grupo OS-12. Tais resultados são similares ao observado em pacientes obesos ou com SM (ARMUTCU *et al.*, 2005; PALMIERI *et al.*, 2006).

Vale lembrar que EO está fortemente ligado ao DM e um fator importante neste quadro é a baixa capacidade antioxidante do pâncreas (TIEDGE *et al.*, 1997). De fato, as espécies reativas de oxigênio participam em diversos processos patológicos e fisiológicos. As espécies reativas de oxigênio são produzidas naturalmente em nosso organismo através dos processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas, e nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sanguíneos em resposta a atividade do óxido nítrico (HALLIWELL, 1992). A produção de espécies reativas de oxigênio e de outras substâncias altamente reativas em decorrência do metabolismo do oxigênio é contrabalanceada por muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis e impedir a indução de danos celulares. O desequilíbrio entre a produção de

moléculas oxidantes e a capacidade de inativação dessas moléculas, resulta na indução de danos celulares causados pelas espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL, 2007).

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças degenerativas tais como as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares (AMES *et al.*, 1993). Esse importante papel no desenvolvimento de patologias vinculado às espécies reativas de oxigênio se deve a razão de que todos os componentes celulares são suscetíveis à ação dessas espécies.

O aumento dos danos observados em nosso estudo também pode ser observado em outros modelos de doença crônica como o modelo experimental de hipertensão (SHR) (CONDEZO-HOYOS *et al.*, 2012). Vale ressaltar ainda que houve redução da GPx e da CAT nos animais obesos sugerindo prejuízo marcante no equilíbrio redox nos animais obesos. Neste sentido, estudos evidenciam que o aumento de ácidos graxos livres decorrentes da hiperglicemia e da resistência à insulina podem estimular a geração de espécies reativas de oxigênio, favorecendo o desenvolvimento de disfunções nesta condição (INOBUCHI *et al.*, 2000; SHEIKH-ALI *et al.*, 2011). Além disto, é possível que exista uma associação entre moléculas bioativas liberadas a partir de tecido adiposo e o EO. De fato, parece haver uma correlação entre a quantidade de tecido adiposo branco visceral e marcadores de EO sistêmico, o que indica que esse tecido é um regulador independente de alterações oxidativas (GRATTAGLIANO *et al.*, 2008).

ESTUDO 2

O objetivo principal de nosso trabalho foi utilizar diferentes modalidades de treinamento físico para prevenção dos mecanismos associados às complicações do DM tipo II. Para observarmos em quais momentos o treinamento físico poderia ter um papel preventivo ou no tratamento de disfunções já estabelecidas, analisamos um grupo de camundongos obesos com 4 semanas de vida (idade com o qual iniciamos o treinamento físico) e o comparamos com o grupo obeso com 12 semanas de vida (idade com o qual os camundongos terminaram o protocolo de treinamento físico).

Observamos em nosso estudo, apesar do aumento do peso corporal, uma diminuição do peso dos músculos no grupo OS-12 em comparação ao grupo OS-4. A perda de massa muscular (sarcopenia) somada à perda de força é um processo fisiológico comumente visto em pessoas idosas (FRONTERA *et al.*, 2000; GOODPASTER *et al.*, 2008). É importante destacar que a sarcopenia está associado à perda de autonomia, risco aumentado de quedas, redução da densidade mineral óssea e declínio da capacidade funcional (WHIPPLE *et al.*, 1987; BAUMGARTNER *et al.*, 1998; LIMA *et al.*, 2009; CARMELI *et al.*, 2012). Além disso, a reduzida massa muscular pode estar relacionada ao maior risco de mortalidade em idosos (BUNOUT *et al.*, 2011).

Apesar de bastante frequente em idosos, existe uma disfunção característica em indivíduos obesos chamada de obesidade sarcopênica. Obesidade sarcopênica é caracterizada quando ocorre aumento da massa gorda com diminuição da massa livre de gordura (BAUMGARTNER, 2000). Existe correlação entre obesidade sarcopênica e diminuição do VO₂ e diminuição da força muscular (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Portanto, é plausível que os resultados encontrados no estudo 1 de diminuição do tempo de teste de esforço em esteira e diminuição da força no teste de escada

observado nos animais obesos em comparação aos animais selvagens, possam estar relacionadas a obesidade sarcopênica.

O camundongo ob/ob foi descoberto em 1949. Entre as principais características desses animais podemos observar hiperfagia, obesidade, hiperinsulinemia e hiperglicemia (LINDSTROM, 2007). Dessa forma, podemos afirmar que esses animais apresentam características semelhantes a pacientes diabéticos. Porém, essas alterações metabólicas não ocorrem desde o nascimento desses animais. Neste sentido, o ganho de peso corporal e de tecido adiposo foi bastante significativo e expressivo nos animais ob/ob ao longo das 8 semanas de protocolo. Considerando a atividade lipogênica do simpático já comentada no estudo 1, é interessante notar que os valores médios de noradrenalina no tecido adiposo do grupo OS-4 são muito próximos aos observados nos animais SS, porém são mais que o dobro do valor observado no grupo OS-12, sugerindo que a redução do simpático possa ter favorecido o ganho de tecido adiposo ao longo do protocolo. Seguindo essa mesma linha de raciocínio, vale lembrar o trabalho de Enriori et al. (ENRIORI *et al.*, 2011) que demonstraram redução da atividade simpática para o tecido adiposo branco em animais ob ob, inferida pela medida da temperatura. Nesses animais, essa redução acompanhada de hipoatividade e hiperfagia contribui para o armazenamento de energia e naturalmente, ganho de peso corporal e de tecido adiposo.

Com relação ao aumento da dopamina observado no grupo OS-12 em relação ao OS-4, é interessante lembrar os achados de Szczyпка et al. (SZCZYPKA *et al.*, 2000) que demonstraram a importância da dopamina na manutenção do comportamento de hiperfagia nos camundongos ob/ob, colaborando para o aumento de peso nesse modelo. Adicionalmente, a resistência à insulina, por exemplo, é observada após a 3^o-4^o semana de vida (GRUNDLEGER *et al.*, 1980). De fato, em nosso estudo, observamos que os animais com 12 semanas de vida apresentam maior intolerância à glicose,

quando comparados aos animais com 4 semanas de vida. Resultados semelhantes foram observados em humanos, (GORAN *et al.*, 2004).

Neste aspecto, vale destacar que diversos estudos têm demonstrado que sujeitos saudáveis com história familiar positiva de DM tipo II, já apresentam características favoráveis para o surgimento de síndrome metabólica e risco de doenças cardiovasculares (HAFFNER, 1996; BARWELL *et al.*, 2008; GIANNATTASIO *et al.*, 2008). Além disto, pessoas com historia familiar positiva de DM tipo II podem apresentar precocemente sinais de deficiência na ação da insulina (VAUHKONEN *et al.*, 1998; VAAG *et al.*, 2001; KASHYAP *et al.*, 2003; ARSLANIAN *et al.*, 2005; GOLDFINE *et al.*, 2006), intolerância à glicose (GORAN *et al.*, 2003; GORAN *et al.*, 2004), anormalidades no perfil lipídico (WING *et al.*, 1992), aumento na PA, redução na função das células beta-pancreáticas (GORAN *et al.*, 2004; ROSENBAUM *et al.*, 2004) e prejuízo na função endotelial (GOLDFINE *et al.*, 2006). A resistência à insulina em pessoas com história familiar positiva de DM tem sido apresentada como um importante preditor do surgimento dessa doença (PETERSEN *et al.*, 2004). Nos animais ob/ob resultados semelhantes são vistos, pois a resistência à insulina é uma das primeiras alterações observadas nesses animais (LINDSTROM, 2007).

Em relação às análises hemodinâmicas, não observamos diferenças em relação à PA nem em relação à FC nos grupos estudados. Os animais ob/ob não apresentam alterações em relação à PA, e por isso, estes animais não são vistos como um bom modelo de hipertensão relacionado à obesidade (LINDSTROM, 2007). Portanto, não esperávamos alterações hemodinâmicas dependentes do tempo em nosso estudo.

Em relação às análises da VFC, não observamos diferenças entre os grupos OS-4 e OS-12. Vale lembrar que no estudo 1, observamos que os animais obesos apresentam prejuízos autonômicos em relação aos animais selvagens. Adicionalmente, observou-se que a sensibilidade barorreflexa

espontânea (índice alfa) apresentou tendência a redução ($p=0,07$) no grupo OS-12 em relação ao grupo OS-4; porém, o índice alfa já estava significativamente reduzido no grupo OS-4 ($1,04\pm 0,07$ ms/mmHg) em relação ao grupo SS ($3,0\pm 0,3$ ms/mmHg, $p<0,05$), reforçando a presença precoce de disfunção autonômica neste modelo. Dessa forma, é possível que essas diferenças sejam notadas já nas primeiras semanas de vida (já que não houve diferenças entre os grupos OS-4 e OS-12). É interessante notarmos que em um estudo de De Angelis et al. (DE ANGELIS *et al.*, 2009) as alterações de modulação autonômica antecederam as mudanças metabólicas em camundongo submetidos a sobrecarga de frutose. Da mesma forma que nesse modelo animal, podemos observar também em humanos com história familiar positiva de DM tipo 2 que as alterações autonômicas podem surgir antes das alterações metabólicas (FOSS *et al.*, 2001).

A neuropatia diabética é uma complicação de grande prevalência, e é acompanhada por uma gama de anormalidades, envolvendo tanto o sistema nervoso autônomo como o sistema nervoso somático, aumentando significativamente a morbidade e a mortalidade desses pacientes (HILSTED *et al.*, 1979; NATHAN *et al.*, 1996). Dessa forma, torna-se importante diagnosticar precocemente alterações na modulação autonômica. De fato, Foss et al. (FOSS *et al.*, 2001) evidenciaram que a neuropatia autonômica em filhos de diabéticos não está necessariamente associada à hiperglicemia. Os autores sugerem que a neuropatia autonômica é parte de uma síndrome genética da doença que inclui aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Portanto, o diagnóstico feito pelo estudo da modulação autonômica pode ser mais efetivo que o estudo de anormalidades metabólicas na fase inicial da doença.

Apesar das anormalidades autonômicas estarem presentes já no início da doença, o tempo de diabetes também exerce um papel importante no agravamento da disfunção autonômica. A neuropatia autonômica diabética apresenta-se em 20 a 40% dos diabéticos (HILSTED *et al.*, 1979),

variando de 16% em diabéticos recém diagnosticados, a 70% naqueles de longa duração (LEVITT *et al.*, 1996). Nossos resultados demonstram que durante as 8 semanas de protocolo, os camundongos apresentam aumento na VPA. Vale lembrar que o aumento da VPA está relacionado ao aumento de lesão de órgãos alvo (SU & MIAO, 2001). Além disto, observamos aumento em relação à banda de baixa frequência da PA, representativa da modulação simpática vascular, entre os grupos OS-4 e OS-12, evidenciando agravamento da disfunção autonômica cardiovascular nos camundongos ob/ob ao longo do protocolo.

Em relação ao sistema renina angiotensina, o tempo de diabetes e obesidade parece não interferir na ativação do eixo constritor desse sistema no coração e no rim. Resultados semelhantes foram observados em ratos diabéticos por streptozotocina. A densidade do receptor de angiotensina II do miocárdio estava aumentada em associação a um aumento nos níveis de RNAm de receptor AT1. Esse aumento na ativação do sistema renina angiotensina no miocárdio foi independente de alterações do sistema renina angiotensina circulante (SECHI *et al.*, 1994). Adicionalmente, em outro estudo também realizado com ratos diabéticos por streptozotocina foi demonstrado que o tratamento com inibidor da enzima conversora de angiotensina evitou distúrbios de auto-regulação coronária e a diminuição da perfusão cardíaca geralmente observado em ratos diabéticos (ROSEN *et al.*, 1996).

Esse aumento de angiotensina 2 observado precocemente no ventrículo esquerdo e no rim tem grande importância clínica, uma vez que, a angiotensina 2 desempenha um papel importante na função cardiovascular através de ações diretas sobre o coração e também no rim, supra-renais, cérebro e nervos simpáticos (BROWN & SERNIA, 1994).

Além das complicações autonômicas e da maior ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina no ventrículo esquerdo, o tempo de diabetes também parece estar relacionado ao aumento do EO. Aumento de EO já havia sido documentado nesse modelo em um estudo anterior

(CHRISTOFFERSEN *et al.*, 2003). Porém, nosso estudo possibilitou avaliar que o aumento do EO não ocorre nas primeiras semanas de vida nos animais ob/ob já que houve aumento dos parâmetros de lesão no rim e no coração nos animais com 12 semanas em relação aos animais com 4 semanas.

Os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio se manifestam em diversos tecidos, incluindo o sistema nervoso (PAZDRO & BURGESS, 2010). O EO está associado à capacidade de se regenerar e à apoptose dos neurônios. Portanto, é plausível que esse possa ser um dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da neuropatia autonômica observada em diabéticos (RUSSELL *et al.*, 2002). A incapacidade em se regenerar está relacionada ao grau de neuropatia, sugerindo que as intervenções terapêuticas para melhorar a regeneração dessas fibras são mais eficazes nos estágios iniciais da doença (POLYDEFKIS *et al.*, 2003). Porém, em nosso estudo parece que a disfunção autonômica, evidenciada pela redução da VFC e da sensibilidade barorreflexa espontânea no grupo OS-4, possa ter favorecido o aumento de estresse oxidativo no coração e nos rins observado no grupo OS-12. Todavia, não fica claro em nosso estudo se o aumento do estresse oxidativo em tecidos alvo para a regulação cardiovascular, como o coração e os rins, favoreceu o aumento da VPA e do simpático vascular, ou se as alterações na variabilidade da PA influenciaram o estresse oxidativo neste modelo, já que em nosso estudo essas alterações foram expressivas e concomitantes no grupo OS-12.

ESTUDO 3

O objetivo do protocolo 3 foi avaliar os efeitos de diferentes tipos de treinamento físico (aeróbio, resistido e combinado) em parâmetros metabólicos, hemodinâmicos, autonômicos, hormonais, de inflamação e estresse oxidativo em um modelo de diabetes tipo 2. Nossos resultados demonstraram que os três tipos de treinamento físico atenuaram o ganho de peso nos animais obesos, além de reduzirem a glicemia e a intolerância à glicose, melhoraram a sensibilidade dos pressorreceptores, aumentaram a adiponectina no baço, modularam favoravelmente o sistema renina angiotensina no tecido adiposo, renal e cardíaco e reduziram o estresse oxidativo em rim e coração em camundongos ob/ob. Adicionalmente, o treinamento físico aeróbio e resistido foram eficientes em aumentar a VFC e reduzir a banda de baixa frequência da PA. Porém, o treinamento combinado foi o mais eficiente em melhorar os triglicérides plasmáticos e o perfil inflamatório no tecido abdominal, bem como teve maiores benefícios nos peptídeos do sistema renina angiotensina em tecido adiposo e cardíaco nos animais obesos.

Muitos estudos demonstraram que a realização de atividade física pode ser benéfica no tratamento de diversas doenças, incluindo obesidade (SAVAGE *et al.*, 2003) e DM, além de ser uma abordagem efetiva na prevenção do surgimento de DCV. Todavia, deve-se considerar que a maior parte dos trabalhos publicados com relação aos efeitos do treinamento físico em animais e humanos foi realizada estudando apenas o treinamento aeróbio e utilizando amostras do sexo masculino. Dessa forma, o objetivo de nosso estudo foi avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio, resistido e combinado analisando as adaptações do sexo feminino a essas abordagens.

Com relação ao peso corporal, no presente estudo verificamos aumento dessa variável em todos os grupos ao longo do protocolo, conforme esperado. Porém, no final do protocolo, os grupos

treinados apresentaram menor peso corporal quando comparadas ao grupo sedentário, demonstrando que o ganho de peso foi influenciado pelo treinamento físico. A redução ou manutenção do peso corporal mediado pelo treinamento físico foi anteriormente observada em humanos (SHANGOLD, 1990) e em animais de experimentação (DE ANGELIS *et al.*, 1997; DE ANGELIS *et al.*, 2004; IRIGOYEN *et al.*, 2005)

Ao comparar os efeitos do treinamento aeróbio ao do treinamento de força nas variações do peso corporal, foi verificado que pacientes diabéticos do tipo II apresentam diminuição do peso corporal apenas frente ao treinamento físico aeróbio, sendo que os pacientes que realizaram o treinamento físico resistido não apresentaram nenhuma mudança no peso corporal (LAROSE *et al.*, 2010). Entretanto, em nosso estudo, o tipo de treinamento realizado não influenciou a diminuição do aumento do peso, já que todos os grupos treinados apresentaram peso corporal semelhante ao final do protocolo. Tal fato também pode estar relacionado à característica bastante dinâmica do treinamento resistido realizado em escada no presente estudo.

A obesidade é vista como um dos maiores problemas de saúde aumentando significativamente o risco de desenvolver diversas doenças, incluindo desordens musculoesqueléticas (JAMES, 1995; MUST *et al.*, 1999). Pacientes obesos apresentam diminuição do nível de atividade da vida diária além de diminuição da capacidade de caminhar (WEARING *et al.*, 2006). Em nosso estudo 3 observamos que no início do protocolo, não houve nenhuma diferença entre os grupos em relação ao teste de esforço aeróbio. Porém, após o período de treinamento, os grupos treinados apresentaram melhora na performance aeróbia comparado ao grupo sedentário. Além disso, vale destacar que o grupo que realizou o treinamento aeróbio e o grupo que realizou o treinamento combinado apresentaram melhores resultados no final do protocolo quando comparados ao grupo que realizou o treinamento resistido. Além disso, o grupo sedentário apresentou uma piora da

performance no teste final comparado ao seu teste inicial. Essa piora na performance aeróbia pode ser explicada pelo aumento do peso corporal e redução de massa muscular do sóleus, um músculo com predomínio de fibras lentas (tipo I), que ocorreu durante o protocolo no grupo OS-12 em decorrência da obesidade sarcopênica (discutida no estudo 2) e pelas alterações metabólicas causadas pelo DM (discutidas no estudo 1). Porém, o treinamento físico, tanto aeróbio e resistido isolados como o treinamento combinado, foram eficientes em prevenir o prejuízo no desempenho aeróbio ocorrido pelo aumento do ganho de peso corporal nesses animais ob/ob. Essa capacidade em manter e/ou melhorar a capacidade aeróbia do treinamento físico já foi documentada em diabéticos em estudos prévios (JORGE, M. L. *et al.*, 2011).

Em nosso estudo 3, no teste de força máxima em escada, os grupos não apresentaram diferenças nos resultados no teste inicial. Após o período de treinamento físico, os grupos treinados apresentaram melhora na força máxima comparados ao grupo sedentário e comparados a seus valores iniciais. Além disso, o grupo que permaneceu sedentário apresentou diminuição da força no final do protocolo comparado ao início. Da mesma forma que no desempenho aeróbio, a diminuição da força muscular já era esperada pelo grande ganho de peso e redução da massa muscular do plantar (predomínio de fibras rápidas, tipo IIB) que os animais apresentaram durante o protocolo, e mais uma vez, o treinamento físico foi eficiente em prevenir esse prejuízo na força nos grupos treinados. Além disso, vale destacar que os grupos que realizaram o treinamento resistido e combinado apresentaram um aumento adicional na força máxima no final do protocolo comparado ao grupo que realizou o treinamento aeróbio isolado. Recentemente um trabalho de nosso grupo também demonstrou melhora na força em ratos fêmeas com diabetes induzida por STZ que realizaram exercício físico em escada (SANCHES *et al.*, 2014). Adicionalmente, o aumento na força máxima

após um período de treinamento de força, também pôde ser verificado em pacientes obesos com DM tipo II (PLOTNIKOFF *et al.*, 2010).

Em conjunto, nossos resultados evidenciam adaptações específicas aos tipos de treinamento físico aplicado, ou seja, aumento de massa do soleus (predomínio de fibras do tipo I) e do desempenho no teste em esteira nos animais que foram submetidos ao treinamento físico aeróbio em esteira (OA e OC vs. OS-12), bem como aumento da massa do plantar (predomínio de fibras tipo IIB) e do desempenho no teste de força na escada nos animais que foram submetidos ao treinamento físico resistido em escada (OR vs. OS-12).

Entre as diversas complicações observadas em pacientes obesos, destaca-se o risco aumentado em desenvolver DM tipo 2. Estudos evidenciam que a obesidade pode levar à resistência à insulina através da *down regulation* de receptores para insulina, produção e liberação aumentada de ácidos graxos livres, leptina e a produção do hormônio resistina pelos adipócitos. De fato, obesidade e DM tipo II se relacionam fortemente. Geralmente a obesidade induz resistência à insulina e, conseqüentemente, DM tipo II. Por outro, o hiperinsulinismo existente no DM tipo II decorrente da resistência dos receptores, leva a alteração do metabolismo, ocorrendo o anabolismo, ou seja, acúmulo de energia e de gordura, causando obesidade (WITZEL, 2000). Desde o século XVIII, médicos reconheceram a utilidade terapêutica do exercício no tratamento do DM (ROLLO, 1978). Nesse sentido, o treinamento físico aeróbio e resistido podem ser eficientes em diminuir a glicemia sanguínea (JORGE, M. L. *et al.*, 2011) e a HbA1C (LAROSE *et al.*, 2010) em pacientes diabéticos. Além disso, o treinamento aeróbio também foi eficiente em diminuir a glicemia em camundongos obesos (PALMER *et al.*, 2012). De fato, em nosso estudo demonstramos que o treinamento físico foi eficaz em diminuir a glicemia além de melhorar a tolerância à glicose nos grupos submetidos aos diferentes tipos de treinamento físico quando comparados ao grupo sedentário. Existem evidências

de que o treinamento físico melhore a homeostase da glicose, reduzindo a razão glicose/insulina e aumentando a sensibilidade à insulina (DE ANGELIS *et al.*, 1997; DE ANGELIS LOBO D'AVILA *et al.*, 1999). Além disso, o treinamento físico não apenas atenua a redução nos transportadores de glicose (GLUT-4) no miocárdio, como também aumenta a concentração de GLUT-4 na membrana muscular em ratos diabéticos (OSBORN *et al.*, 1997) favorecendo a captação da glicose.

É importante ressaltar que durante o exercício outros mecanismos (independentes da ação da insulina) podem estar envolvidos na ativação do transporte da glicose no sentido de melhorar a sua captação pela musculatura esquelética. Esses mecanismos envolvem componentes parácrinos e autócrinos como, por exemplo, óxido nítrico, a caliceína e a adenosina. Portanto, durante o exercício, há a possibilidade da captação de glicose pelo músculo, sem necessariamente existir a ação da insulina. Esse mecanismo pode ser importante em indivíduos diabéticos, pois pode contribuir para a maior utilização de glicose como fonte energética, o que favorece a redução da hiperglicemia (IVY, 1997; GOODYEAR & KAHN, 1998).

Além disso, existem evidências de que as adaptações na musculatura esquelética induzidas pelo treinamento físico possam resultar em aumento da expressão gênica do transportador de glicose (GLUT 4). Esse aumento de GLUT-4 pode ser um dos mecanismos responsáveis pela melhor captação de glicose pelo músculo em indivíduos treinados, mesmo com os níveis de insulina alterados. Essa alteração tem grande importância, principalmente em indivíduos diabéticos tipo 2, pois pode ajudar a diminuir a resistência à insulina e a intolerância à glicose (GOODYEAR & KAHN, 1998). Esse aumento no transporte de glicose e a melhora na sensibilidade à insulina podem permanecer por períodos prolongados após a sessão de exercício dinâmico, o que poderia ser benéfico no controle glicêmico de pacientes com diabetes (IVY, 1997; GOODYEAR & KAHN, 1998).

Adicionalmente, nosso estudo demonstrou que o treinamento físico aeróbio, tanto isolado (grupo OA) como combinado ao exercício realizado na escada (grupo OC), induziu redução mais expressiva na glicemia em relação ao grupo OR. Os benefícios do treinamento físico aeróbio já têm sido bastante explorados na literatura e classicamente já foi demonstrado que ele leva à diminuição da glicemia (KIRWAN *et al.*, 1993; MILLER *et al.*, 1994; ERIKSSON *et al.*, 1997). Por outro lado, observamos que os grupos que realizaram treinamento físico em escada apresentaram um benefício adicional no teste de intolerância à glicose quando comparado ao grupo que realizou apenas o treinamento em esteira. Em um estudo realizado em pacientes diabéticos do tipo 2, no qual foi comparado o exercício aeróbio ao exercício combinado, foi demonstrado que apenas os sujeitos que realizaram treinamento físico combinado apresentaram aumento no resíduo do receptor de insulina (IRS) (JORGE, M. L. *et al.*, 2011). Esse resultado pode estar relacionado à melhora da intolerância à glicose nos grupos que realizaram o treinamento resistido.

No presente estudo, não foi verificado nenhuma diferença na PAS, na PAD e consequentemente, na PAM entre os grupos estudados. Os efeitos do treinamento físico sobre a PA em repouso em indivíduos normotensos e hipertensos tem sido objeto de vários estudos. Há um consenso na literatura de que o treinamento físico leva a diminuição da PA em repouso. No entanto, esse efeito é mais pronunciado em indivíduos hipertensos, uma vez que a maioria dos estudos realizados em normotensos não mostrou modificação da PA ou então, reduções de pequena magnitude (ACSM, 2003; CORNELISSEN & FAGARD, 2005). Dessa forma, considerando que utilizamos somente animais normotensos, esse resultado já era esperado, pois esse modelo de camundongo não apresenta disfunções na PA basal e, portanto, o treinamento físico influenciaria pouco ou não teria nenhuma influência sobre esse parâmetro. Também não observamos diferenças em relação à FC. Apesar de observarmos na literatura bradicardia de repouso em animais treinados

(DE ANGELIS *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007), não observamos nenhuma diferença no presente trabalho em relação à FC. A diminuição da FC tem sido apontada como um marcador de eficácia do treinamento físico em indivíduos praticantes de exercícios (SMITH *et al.*, 1989). A bradicardia já foi verificada tanto em homens quanto em modelo de experimentação animal, e tem sido atribuída ao aumento do tônus vagal para o coração (DE ANGELIS *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007), à diminuição do tônus simpático para o coração (SANCHES *et al.*, 2009) e também à diminuição da FC intrínseca de marcapasso (NEGRAO, 1992). Em nosso estudo, não verificamos diferenças em relação à modulação simpática e parassimpática cardíaca frente aos diferentes tipos de treinamento físico e talvez por esse motivo, não observamos diferenças na FC nesse modelo de camundongo.

Inúmeras evidências apontam fortemente para uma maior participação do sistema nervoso simpático em diversas doenças. Observa-se ainda na literatura que pacientes que apresentam algum fator de risco como obesidade (ALVAREZ *et al.*, 2002), dislipidemia, DM ou já são portadores de DCV como a hipertensão (IRIGOYEN, 2003) demonstram uma atividade simpática exacerbada. Por outro lado, sabe-se que a prática regular de exercícios pode melhorar a modulação do sistema nervoso autônomo (DIXON *et al.*, 1992; FURLAN *et al.*, 1993). De fato, há mais de duas décadas diversos estudos têm mostrado que a atividade física regular é importante para se manter um estilo de vida saudável e que baixos níveis de atividade física podem ser preditores para mortalidade total e relacionada a doenças cardiovasculares (CHANG & FROELICHER, 1994; PATE *et al.*, 1995). Em pacientes com DM tipo II, o treinamento físico se mostra eficiente para reverter alterações autonômicas causadas pela doença. Pacientes diabéticos submetidos a treinamento físico aeróbio apresentam aumento na banda AF e diminuição da banda BF e do balanço simpato/vagal, além de aumento no SDNN, RMSSD e PNN50 (ZOPPINI *et al.*, 2007; PAGKALOS *et al.*, 2008). Em nosso estudo, observamos que os grupos que realizaram o treinamento físico aeróbio e resistido

apresentaram melhora da VAR-IP. Todavia, tal achado não foi observado no grupo que realizou o treinamento combinado.

Em relação às análises de VPA, em nosso estudo não observamos nenhuma alteração frente aos diferentes tipos de treinamento físico na VAR-PAS. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio e resistido foram eficientes em reduzir a banda de LF da PAS, representativa da modulação simpática vascular, o que não foi observado no grupo OC. Estudos vêm demonstrando de forma consistente que a hiperatividade simpática aumenta o risco cardiovascular, com conseqüente exposição à lesão de órgão alvo (Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996; SU & MIAO, 2001). Nossos resultados demonstram que o treinamento físico, tanto aeróbio quanto resistido, foi eficiente em melhorar a modulação autonômica vascular. Dessa forma, nosso estudo sugere que animais obesos e diabéticos podem ter uma proteção autonômica cardiovascular induzida pelo treinamento físico.

Além disso, também observamos melhora da sensibilidade do barorreflexo induzido por drogas vasoativas (resposta bradicárdica) nos grupos submetidos ao treinamento físico, independente da modalidade. A sensibilidade dos pressorreceptores é uma excelente medida da função autonômica. Além disso, o prejuízo no controle reflexo da circulação comandado pelos pressorreceptores tem sido reconhecido também como um importante preditor de risco após evento cardiovascular (LA ROVERE *et al.*, 1998). É importante salientar que tanto a melhora da VFC quanto a melhora da sensibilidade barorreflexa estão inversamente relacionadas à mortalidade pós infarto (LA ROVERE *et al.*, 1998). Dessa forma, torna-se importante estudar estratégias que levem a melhora dessa variável. Estudos de nosso grupo comprovaram que o treinamento físico induz uma melhora na sensibilidade barorreflexa em ratos e camundongos machos (DE ANGELIS *et al.*, 2004;

HARTHMANN *et al.*, 2007) e em ratas fêmeas ooforectomizadas controles ou diabéticas (IRIGOYEN *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2007). Além disso, se observa melhora da sensibilidade barorreflexa mediada pelo treinamento físico em pacientes diabéticos (LOIMAALA *et al.*, 1999).

É importante destacarmos que a interpretação da atividade autonômica deve ser feita de forma cuidadosa, pois a atuação do sistema nervoso pode ser diferente dependendo do tecido estudado. Sabemos que uma maior atuação do sistema nervoso simpático para o coração representa mau prognóstico e pode predispor diversas doenças e está presente em muitos pacientes com patologias já estabelecidas. Porém, uma maior atividade simpática para o tecido adiposo pode representar um aumento na lipólise, o que pode estar relacionado à diminuição de fatores de risco como inflamação e EO. Na obesidade, por exemplo, é possível que ocorra menor modulação simpática que pode ser demonstrada por maior resistência à ação das catecolaminas no tecido adiposo. Adicionalmente, o sedentarismo é um fator de risco que pode contribuir para essa maior resistência à ação das catecolaminas (ARNER, 1999).

De fato, o treinamento físico melhora a ação lipolítica das catecolaminas na gordura subcutânea. Neste sentido, o aumento da noradrenalina no grupo OA pode indicar uma maior atividade lipogênica que pode estar associada a redução do acúmulo de tecido adiposo neste grupo. Além disso, a redução da dopamina observada em todos os grupos treinados pode estar relacionada com a informação de que a mesma parece estar relacionada ao comportamento hiperfágico (SZCZYPKA *et al.*, 2000). Dessa forma, estes poderia ser um mecanismo pelo qual o treinamento poderia contribuir para a redução de peso corporal desses animais.

Disfunções na modulação autonômica e na sensibilidade barorreflexa também podem estar relacionadas a maior ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina (HILZENDEGER *et al.*, 2010). A ativação desse eixo além de estar relacionada à modulação simpática e sensibilidade

barorreflexa, também contribui para o estabelecimento da obesidade e da resistência à insulina (MASSIERA *et al.*, 2001). De fato, em nosso estudo observamos que animais obesos apresentam maiores níveis de angiotensina 2 em rim e coração, maior glicemia e diminuição da tolerância à glicose. Porém, é interessante notarmos que os camundongos que realizaram treinamento físico, independente da modalidade, melhoraram a sensibilidade barorreflexa, reduziram a glicemia e aumentaram a tolerância à glicose, além de diminuírem os níveis de angiotensina 2 e aumentarem os níveis de angiotensina 1-7 (modulando favoravelmente o sistema renina angiotensina). De fato, assim como em nosso estudo, outros autores também observaram que o treinamento físico induz diversas adaptações benéficas, incluindo a diminuição da ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina, do estresse oxidativo e da inflamação (KOJDA & HAMBRECHT, 2005; GAO *et al.*, 2007; RUSH & AULTMAN, 2008). Além disto, foi demonstrado recentemente que o treinamento físico induz benefícios na razão angiotensina 2/ angiotensina 1-7 tanto em ratos normotensos, como em ratos SHR. Porém, nesse estudo foi demonstrado que o maior benefício do treinamento físico no eixo angiotensina 2/ angiotensina 1-7 foi na artéria renal (SILVA *et al.*, 2015). Em nosso estudo, observamos que os três tipos de treinamento físico foram eficientes em reduzir a angiotensina 2 e aumentar a angiotensina 1-7 no tecido adiposo, no rim e no ventrículo esquerdo. De fato, outros estudos também demonstraram um efeito benéfico do treinamento físico na menor ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina em diferentes tecidos como coração, rim, músculo esquelético e aorta tanto de ratos hipertensos como de ratos com insuficiência cardíaca crônica (IGASE *et al.*, 2005; FILHO *et al.*, 2008; KAR *et al.*, 2010; FERNANDES *et al.*, 2011; AGARWAL *et al.*, 2012; GOMES-SANTOS *et al.*, 2014; GU *et al.*, 2014).

Em ratos infartados, o treinamento físico realizado em intensidade moderada foi capaz de reduzir a angiotensina 2, a ECA, a renina e a aldosterona (WAN *et al.*, 2007). A redução da

angiotensina 2 em resposta a um programa de treinamento físico também foi observada em pacientes (BRAITH *et al.*, 1999) e em coelhos (LIU *et al.*, 2000) com insuficiência cardíaca.

Vale ressaltar que a ativação do eixo constritor do sistema renina angiotensina está correlacionada com o desenvolvimento de doenças crônicas (NATHAN *et al.*, 1996), além de estar relacionada com disfunção autonômica e barorreflexa (DZAU & RE, 1994). Dessa forma, é possível que o sistema renina angiotensina esteja relacionado a um risco aumentado de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Portanto, os resultados benéficos observados em nosso estudo do treinamento físico em camundongos obesos, pode representar um importante papel na prevenção ou atenuação das complicações observadas em pacientes diabéticos. Por fim, vale destacar que demonstramos um efeito adicional do treinamento físico combinado no aumento de angiotensina 1-7 em tecido cardíaco em relação ao treinamento aeróbio, bem como um efeito adicional de redução de angiotensina 2 e aumento de angiotensina 1-7 em tecido adiposo dos animais submetidos a treinamento físico resistido ou combinado em relação aos animais submetidos ao treinamento aeróbio. Tais resultados são inovadores, e reforçam que a associação de treinamento dinâmico aeróbio e resistido em intensidades moderadas podem maximizar os efeitos destes treinamentos realizados de forma isolada.

Em relação ao perfil inflamatório, observamos que o treinamento físico em esteira parece ser fundamental para o aumento da adiponectina no baço, pois observamos aumento dessa variável apenas nos grupos OA e OC. Além disso, apenas o treinamento combinado levou a diminuição da IL-6 no baço em relação ao grupo OS-12. O treinamento físico combinado também foi a única abordagem que foi eficaz em reduzir o PAI-1 no tecido adiposo abdominal e no baço em relação ao grupo sedentário. Portanto, parece que o treinamento aeróbio isolado ou combinado ao treinamento resistido é mais eficaz em melhorar o perfil inflamatório comparado ao treinamento resistido isolado.

O benefício do treinamento aeróbio no perfil inflamatório também foi observado em um estudo de Kim et al., no qual os autores mostraram diminuição do TNF-alfa e outras interleucinas nos grupos diabéticos submetidos à treinamento físico aeróbio (KIM *et al.*, 2014).

Tem sido demonstrado que a diminuição da gordura corporal pode estar diretamente ligada à diminuição da síntese de citocinas inflamatórias (ALDHAHI & HAMDY, 2003). Em nosso estudo, é provável que a diminuição do tecido adiposo abdominal não esteja relacionada de forma tão direta à melhora dos marcadores inflamatórios avaliados em baço e tecido adiposo, visto que os 3 tipos de treinamento físico foram eficientes em reduzir a gordura corporal, porém apenas os grupos que realizaram treinamento em esteira se beneficiaram da melhora no perfil inflamatório. De fato, estudos demonstram que a redução do tecido adiposo/peso corporal nem sempre está associada às mudanças nas concentrações de adipocinas (AHMADIZAD *et al.*, 2007; LAU, 2010).

Contrariamente ao que observamos em nosso estudo, um trabalho realizado com portadores de Síndrome de Down, demonstrou que o treinamento físico resistido levou a redução de marcadores inflamatórios sistêmicos, tais como leptina, TNF alfa e IL-6 associado à melhora na composição corporal (ROSETY-RODRIGUEZ *et al.*, 2013). Porém, vale ressaltar que a prescrição do treinamento físico resistido envolve a combinação de diferentes variáveis (intensidade, duração, carga, número de séries, número de exercícios, massa muscular) e estes critérios dificultam a comparação dos dados obtidos na literatura com relação a esse tipo de treinamento físico. Por exemplo, um estudo realizado em mulheres com síndrome metabólica não demonstrou nenhuma alteração em alguns marcadores inflamatórios relacionada à prática de exercício físico resistido (PEREIRA, 2012), o que corrobora com os resultados encontrados em nosso estudo.

Speretta et al. (SPERETTA *et al.*, 2012) observaram redução do TNF-alfa e um aumento da IL-10, refletindo um melhor perfil inflamatório, em ratos submetidos ao protocolo de treinamento

físico resistido. Por outro lado, estes resultados foram mais expressivos quando os animais foram submetidos ao treinamento de natação. Em nosso estudo, os animais que foram submetidos ao treinamento físico aeróbio também demonstraram um melhor perfil inflamatório. De fato, o aumento dos níveis de IL-10 são ligados ao treinamento físico aeróbio, sugerindo benefícios anti-inflamatórios e redução da resistência à insulina pós treino, pois esta interleucina exerce um papel fundamental modulando o metabolismo da glicose (PEDERSEN & SALTIN, 2006; PEDERSEN & FISCHER, 2007). Em conjunto, demonstramos que a somatória dos dois tipos de treinamento físico (combinado) parece ser mais eficiente em melhorar o perfil anti-inflamatório no tecido adiposo e no baço. É importante destacar que nossos resultados de marcadores inflamatórios serão complementados com avaliações adicionais de outros animais o que pode evidenciar diferenças ainda não observadas.

As alterações favoráveis no perfil inflamatório nos grupos treinados podem ter modulado alterações de estresse oxidativo. Neste sentido, observamos que o treinamento físico, independente da modalidade, foi eficiente em reduzir o dano à proteína (carbonilas) e a lipoperoxidação de membrana (TBARS) nos grupos treinados em relação ao grupo que permaneceu sedentário. De fato, os benefícios do treinamento físico em relação ao EO já haviam sido demonstrados em estudos anteriores realizados por nosso grupo, no qual observamos que o treinamento físico aeróbio levou a melhora de marcadores de estresse oxidativo em diferentes modelos de animais como ratos idosos (DE ANGELIS *et al.*, 1997), ratas ooforectomizadas (IRIGOYEN *et al.*, 2005) e ratos SHR (BERTAGNOLLI *et al.*, 2006) e também observado em estudo realizado por outros grupos (CECHELLA *et al.*, 2014). Parise *et al.* (PARISE *et al.*, 2005) também observaram aumento das enzimas antioxidantes no tecido muscular (CAT e na isoforma CuZnSOD) demonstrando que o treinamento resistido pode resultar em adaptações favoráveis em relação ao estresse oxidativo.

Além disto, prejuízos nas defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas foram revertidos: houve redução da lipoperoxidação de membrana induzida pelo treinamento físico aeróbio em um modelo de sobrecarga de frutose em ratos machos (THIRUNAVUKKARASU *et al.*, 2003). Redução de EO foi também observada no estudo de Scheffer et al.(SCHEFFER *et al.*, 2012), no qual animais machos saudáveis submetidos ao treinamento físico resistido em escada com intensidade moderada apresentaram menos dano celular. Recentemente, demonstramos uma redução da lipoperoxidação de membrana e danos a proteínas associadas à um aumento da GPx em tecido cardíaco de animais SHR ooforectomizados submetido ao treinamento resistido com um protocolo semelhante ao empregado no presente estudo (DA PALMA, 2014).

Observamos que o grupo que permaneceu sedentário apresentou aumento na GPx em relação aos grupos treinados e diminuição da CAT em tecido renal. É interessante notarmos que mesmo se tratando de duas enzimas que exercem ações antioxidantes, os resultados foram diferentes frente ao treinamento físico. Tal fato pode ser explicado, pois ambas as enzimas competem pelo mesmo substrato (peróxido de hidrogênio). De fato, os resultados em relação às enzimas antioxidantes parecem ainda não estar muito claros no presente estudo, fazendo com que seja necessário avaliar outros marcadores de EO para melhor interpretação (ZHAN *et al.*, 2004; FORTEPIANI & RECKELHOFF, 2005). Neste sentido, a avaliação da capacidade antioxidante não enzimática poderia favorecer o entendimento da redução de parâmetros de lesão relacionados ao estresse oxidativo nos grupos submetidos ao treinamento físico.

8. SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo evidenciam que os camundongos ob/ob são um bom modelo para o estudo do desenvolvimento do diabetes, bem como para avaliação dos efeitos benéficos do treinamento físico nesta condição.

Nossos achados confirmam dados anteriores da literatura que neste modelo ocorre um aumento exacerbado do peso corporal, do tecido adiposo, da glicemia e da intolerância à glicose ao longo da vida destes animais. Neste sentido, observamos que os camundongos ob/ob com 4 semanas ainda não apresentam de forma marcante alterações metabólicas, as quais foram bem evidentes e marcantes nos camundongos ob/ob com 12 semanas de vida em relação a animais controles. É interessante notar, no entanto, que nós demonstramos de forma inédita que a disfunção autonômica parece bastante precoce neste modelo. Ou seja, com 4 semanas de vida, já observamos uma expressiva redução dos parâmetros da VFC. Este desbalanço autonômico poderia estar ocorrendo não só no coração, mas para outros tecidos, como o baço e o tecido adiposo, favorecendo a liberação de angiotensina 2 e citocinas inflamatórias que poderiam induzir a longo prazo lesão de órgão alvo, como observado no presente estudo em coração e rins, por aumento de estresse oxidativo.

Na tentativa de prevenir e tratar as disfunções cardiometabólicas observadas em camundongos ob/ob nós aplicamos três diferentes tipos de treinamento físico: aeróbio, resistido e combinado, durante 8 semanas (4-12 semanas de vida). O primeiro aspecto a ser destacado com relação a estas abordagens é que não evidenciamos efeitos adversos decorrentes de nenhum dos três tipos de treinamento físico utilizados. No entanto, deve-se destacar que os mesmos foram prescritos com base em teste máximos específicos e foram realizados de forma dinâmica e em intensidade moderada, dois aspectos que julgamos fundamentais para o controle do risco cardiovascular nesta

condição fisiológica durante a execução das sessões de exercício. De uma forma geral, os grupos treinados, independente da modalidade apresentaram redução de peso corporal, do tecido adiposo e ganho de massa muscular (específica para o tipo de treino) em relação aos animais ob/ob sedentários. Houve adicionalmente melhora da VAR-IP e do BF-PAS nos grupos submetidos ao treinamento aeróbio ou resistido em relação ao grupo ob/ob sedentário. Nestes dois parâmetros autonômicos o grupo submetido ao treinamento combinado não foi diferentes dos grupos submetidos ao treinamento físico aeróbio ou resistido isoladamente. No entanto, a sensibilidade baroreflexa melhorou nos três grupos treinados em relação ao grupo sedentário. A melhora autonômica pós treinamento físico poderia estar associada a alterações favoráveis no eixo angiotensina 2/angiotensina 1-7 em tecido adiposo, rim e ventrículo esquerdo e em mediadores inflamatórios em baço e tecido adiposo, as quais parecem ser moduladas pelo tipo de treinamento físico aplicado e/ou tecido avaliado. Vale destacar que os três tipos de treinamento físico foram eficientes em melhorar o perfil de estresse oxidativo cardíaco e renal.

Nosso trabalho sugere que a atenuação da disfunção autonômica (precocemente observada neste modelo de DM) pelo treinamento físico, independente do tipo, possa induzir alterações favoráveis (e dependentes do tipo de treino) no sistema renina angiotensina e em mediadores inflamatórios, reduzindo o estresse oxidativo em tecidos importantes para a regulação cardiovascular.

9. REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, W. T. Diabetes, hypertension, and renal insufficiency in post-myocardial infarction cardiovascular risk. **Rev Cardiovasc Med**, v.4 Suppl 3, p.S30-6, 2003.
- ACSM, A. C. O. S. M. Diretrizes do ACSM para os testes de esforço e sua prescrição Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003
- AGARWAL, D., *et al.* Chronic exercise preserves renal structure and hemodynamics in spontaneously hypertensive rats. **Antioxid Redox Signal**, v.16, n.2, p.139-52. Jan 15, 2012.
- AHIMA, R. S., *et al.* Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**, v.382, n.6588, p.250-2. Jul 18, 1996.
- AHMADIZAD, S., *et al.* Effects of resistance versus endurance training on serum adiponectin and insulin resistance index. **Eur J Endocrinol**, v.157, n.5, p.625-31. Nov, 2007.
- AL-GUBORY, K. H., *et al.* The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **Int J Biochem Cell Biol**, v.42, n.10, p.1634-50. Oct, 2010.
- AL-MAGHREBI, M., *et al.* Endogenous angiotensin-(1-7) reduces cardiac ischemia-induced dysfunction in diabetic hypertensive rats. **Pharmacol Res**, v.59, n.4, p.263-8. Apr, 2009.
- ALDHAHI, W. & O. HAMDY. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes. **Curr Diab Rep**, v.3, n.4, p.293-8. Aug, 2003.
- ALTOMARE, E., *et al.* Increased lipid peroxidation in type 2 poorly controlled diabetic patients. **Diabete Metab**, v.18, n.4, p.264-71. Jul-Aug, 1992.
- ALVAREZ, G. E., *et al.* Sympathetic neural activation in visceral obesity. **Circulation**, v.106, n.20, p.2533-6. Nov 12, 2002.
- American College of Sports Medicine position stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness in healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v.22, n.2, p.265-74. Apr, 1990.
- American Heart Association 71st scientific sessions. Dallas, Texas, USA. November 8-11, 1998. Abstracts. **Circulation**, v.98, n.17 Suppl, p.IA-T, I1-1016. Oct 27, 1998.
- AMES, B. N., *et al.* Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.90, n.17, p.7915-22. Sep 1, 1993.

APOVIAN, C. M., *et al.* Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.28, n.9, p.1654-9. Sep, 2008.

ARMUTCU, F., *et al.* Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. **Clin Biochem**, v.38, n.6, p.540-7. Jun, 2005.

ARNER, P. Catecholamine-induced lipolysis in obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.23 Suppl 1, p.10-3. Feb, 1999.

ARORA, E., *et al.* Effects of resistance training on metabolic profile of adults with type 2 diabetes. **Indian J Med Res**, v.129, n.5, p.515-9. May, 2009.

ARSLANIAN, S. A., *et al.* Family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin sensitivity and an impaired balance between insulin sensitivity and insulin secretion in white youth. **Diabetes Care**, v.28, n.1, p.115-9. Jan, 2005.

ASPLUND-CARLSON, A., *et al.* Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels and insulin sensitivity: studies in randomly selected normo- and hypertriglyceridaemic men. **Diabetologia**, v.36, n.9, p.817-25. Sep, 1993.

BALDUCCI, S., *et al.* Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v.20, n.8, p.608-17. Oct, 2010.

BARRON, S. A., *et al.* Parasympathetic autonomic neuropathy in diabetes mellitus: the heart is denervated more often than the pupil. **Electromyogr Clin Neurophysiol**, v.34, n.8, p.467-9. Dec, 1994.

BARTNESS, T. J. & C. K. SONG. Thematic review series: adipocyte biology. Sympathetic and sensory innervation of white adipose tissue. **J Lipid Res**, v.48, n.8, p.1655-72. Aug, 2007.

BARWELL, N. D., *et al.* Exercise training has greater effects on insulin sensitivity in daughters of patients with type 2 diabetes than in women with no family history of diabetes. **Diabetologia**, v.51, n.10, p.1912-9. Oct, 2008.

BAUMGARTNER, R. N. Body composition in healthy aging. **Ann N Y Acad Sci**, v.904, p.437-48. May, 2000.

BAUMGARTNER, R. N., *et al.* Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **Am J Epidemiol**, v.147, n.8, p.755-63. Apr 15, 1998.

BAYNES, J. W. & S. R. THORPE. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, v.48, n.1, p.1-9. Jan, 1999.

BELLO-KLEIN, A., *et al.* Myocardial oxidative stress and antioxidants in hypertension as a result of nitric oxide synthase inhibition. **Cardiovasc Toxicol**, v.1, n.1, p.43-50, 2001.

BERTAGNOLLI, M., *et al.* Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, v.24, n.12, p.2437-43. Dec, 2006.

BERTAGNOLLI, M., *et al.* Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **Am J Hypertens**, v.21, n.11, p.1188-93. Nov, 2008.

BLIMKIE, C. J., *et al.* Voluntary strength, evoked twitch contractile properties and motor unit activation of knee extensors in obese and non-obese adolescent males. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v.61, n.3-4, p.313-8, 1990.

BOBEUF, F., *et al.* Effect of resistance training on hematological blood markers in older men and women: a pilot study. **Curr Gerontol Geriatr Res**, p.156820, 2009.

BOROVIKOVA, L. V., *et al.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, v.405, n.6785, p.458-62. May 25, 2000.

BOTTINI, P., *et al.* Cardiovascular response to exercise in diabetic patients: influence of autonomic neuropathy of different severity. **Diabetologia**, v.38, n.2, p.244-50. Feb, 1995.

BOUGNERES, P., *et al.* In vivo resistance of lipolysis to epinephrine. A new feature of childhood onset obesity. **J Clin Invest**, v.99, n.11, p.2568-73. Jun 1, 1997.

BOVERIS, A. & B. CHANCE. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. **Biochem J**, v.134, n.3, p.707-16. Jul, 1973.

BRAITH, R. W., *et al.* Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training. **J Am Coll Cardiol**, v.34, n.4, p.1170-5. Oct, 1999.

BRITO, J. O., *et al.* Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. **Braz J Med Biol Res**, v.41, n.9, p.804-8. Sep, 2008.

BROWN, L. & C. SERNIA. Angiotensin receptors in cardiovascular diseases. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.21, n.10, p.811-8. Oct, 1994.

BUNOUT, D., *et al.* Association between sarcopenia and mortality in healthy older people. **Australas J Ageing**, v.30, n.2, p.89-92. Jun, 2011.

BURTON, G. J. & E. JAUNIAUX. Oxidative stress. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, v.25, n.3, p.287-99. Jun, 2011.

CAI, H. & D. G. HARRISON. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ Res**, v.87, n.10, p.840-4. Nov 10, 2000.

CAMERON, N. E. & M. A. COTTER. The relationship of vascular changes to metabolic factors in diabetes mellitus and their role in the development of peripheral nerve complications. **Diabetes Metab Rev**, v.10, n.3, p.189-224. Oct, 1994.

CAMPAGNARO, B. P., *et al.* Cardiac-autonomic imbalance and baroreflex dysfunction in the renovascular Angiotensin-dependent hypertensive mouse. **Int J Hypertens**, v.2012, p.968123, 2012.

CARDOSO, C. G., JR., *et al.* Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. **Clinics (Sao Paulo)**, v.65, n.3, p.317-25. Mar, 2010.

CARMELI, E., *et al.* The relationship of pre-sarcopenia (low muscle mass) and sarcopenia (loss of muscle strength) with functional decline in individuals with intellectual disability (ID). **Arch Gerontol Geriatr**, v.55, n.1, p.181-5. Jul-Aug, 2012.

CARNETHON, M. R., *et al.* Prospective investigation of autonomic nervous system function and the development of type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk In Communities study, 1987-1998. **Circulation**, v.107, n.17, p.2190-5. May 6, 2003.

CARRIER, G. O. & R. S. ARONSTAM. Altered muscarinic receptor properties and function in the heart in diabetes. **J Pharmacol Exp Ther**, v.242, n.2, p.531-5. Aug, 1987.

CARRIER, J. Aerobic plus resistance training was more effective than either alone for glycaemic control in type 2 diabetes. **Evid Based Nurs**, v.11, n.2, p.48. Apr, 2008.

CARVALHO, M. H. C., *et al.* Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v.50, 2006.

CAUZA, E., *et al.* The relative benefits of endurance and strength training on the metabolic factors and muscle function of people with type 2 diabetes mellitus. **Arch Phys Med Rehabil**, v.86, n.8, p.1527-33. Aug, 2005.

CECHELLA, J. L., *et al.* Moderate swimming exercise and caffeine supplementation reduce the levels of inflammatory cytokines without causing oxidative stress in tissues of middle-aged rats. **Amino Acids**, v.46, n.5, p.1187-95. May, 2014.

CERIELLO, A. Oxidative stress and glycemic regulation. **Metabolism**, v.49, n.2 Suppl 1, p.27-9. Feb, 2000.

CHANG, J. A. & V. F. FROELICHER. Clinical and exercise test markers of prognosis in patients with stable coronary artery disease. **Curr Probl Cardiol**, v.19, n.9, p.533-87. Sep, 1994.

CHOWDHARY, S., *et al.* Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. **Hypertension**, v.36, n.2, p.264-9. Aug, 2000.

CHRISTOFFERSEN, C., *et al.* Cardiac lipid accumulation associated with diastolic dysfunction in obese mice. **Endocrinology**, v.144, n.8, p.3483-90. Aug, 2003.

CHU, K. Y. & P. S. LEUNG. Angiotensin II in type 2 diabetes mellitus. **Curr Protein Pept Sci**, v.10, n.1, p.75-84. Feb, 2009.

COIMBRA, R., *et al.* Is gender crucial for cardiovascular adjustments induced by exercise training in female spontaneously hypertensive rats? **Hypertension**, v.52, n.3, p.514-21. Sep, 2008.

COLEMAN, D. L. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. **Diabetologia**, v.14, n.3, p.141-8. Mar, 1978.

CONDEZO-HOYOS, L., *et al.* Liver growth factor treatment reverses vascular and plasmatic oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v.30, n.6, p.1185-94. Jun, 2012.

CORNELISSEN, V. A. & R. H. FAGARD. Effect of resistance training on resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **J Hypertens**, v.23, n.2, p.251-9. Feb, 2005.

DA PALMA, R. K. Efeitos do Treinamento Físico Aeróbio ou Resistido em Parâmetros Autonômicos e de Estresse Oxidativo em Ratas Hipertensas Ooforectomizadas. **Dissertação de Mestrado**, 2014.

DANDONA, P., *et al.* Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends Immunol**, v.25, n.1, p.4-7. Jan, 2004.

DANTAS, A. P. V. & M. H. C. CARVALHO. Efecto protector de los estrógenos em el sistema cardiovascular. . **Antioxidantes y calidad de vida**, v.7, p.6-11, 2000.

DE ANGELIS, K., *et al.* Diabetes and cardiovascular autonomic dysfunction: application of animal models. **Auton Neurosci**, v.145, n.1-2, p.3-10. Jan 28, 2009.

DE ANGELIS, K., *et al.* Cardiovascular control in experimental diabetes. **Braz J Med Biol Res**, v.35, n.9, p.1091-100. Sep, 2002.

DE ANGELIS, K., *et al.* Sympathetic overactivity precedes metabolic dysfunction in a fructose model of glucose intolerance in mice. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.302, n.8, p.R950-7. Apr 15, 2012.

DE ANGELIS, K., *et al.* Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **J Appl Physiol**, v.96, n.6, p.2174-8. Jun, 2004.

DE ANGELIS, K. L., *et al.* Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, v.33, n.6, p.635-41. Jun, 2000.

DE ANGELIS, K. L., *et al.* Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, v.30, n.3 Pt 2, p.767-71. Sep, 1997.

DE ANGELIS LOBO D'AVILA, K., *et al.* Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, v.34, n.4 Pt 2, p.768-72. Oct, 1999.

DIABETES, S. B. D. Consenso, Detecção e Tratamento das Complicações Crônicas do Diabetes Mellitus. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v.43, p.7-15, 1999.

DIXON, E. M., *et al.* Neural regulation of heart rate variability in endurance athletes and sedentary controls. **Cardiovasc Res**, v.26, n.7, p.713-9. Jul, 1992.

DORMANDY, T. L. Free-radical oxidation and antioxidants. **Lancet**, v.1, n.8065, p.647-50. Mar 25, 1978.

DRAGUSHA, G., *et al.* Treatment benefits on metabolic syndrome with diet and physical activity. **Bosn J Basic Med Sci**, v.10, n.2, p.169-76. May, 2010.

DREL, V. R., *et al.* The leptin-deficient (ob/ob) mouse: a new animal model of peripheral neuropathy of type 2 diabetes and obesity. **Diabetes**, v.55, n.12, p.3335-43. Dec, 2006.

DUBEY, R. K. Vasodilator-derived nitric oxide inhibits fetal calf serum- and angiotensin-II-induced growth of renal arteriolar smooth muscle cells. **J Pharmacol Exp Ther**, v.269, n.1, p.402-8. Apr, 1994.

DUBEY, R. K., *et al.* Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cell. Role of cyclic-nucleotides and angiotensin1 receptors. **J Clin Invest**, v.96, n.1, p.141-9. Jul, 1995.

DZAU, V. J. & R. RE. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift? **Circulation**, v.89, n.1, p.493-8. Jan, 1994.

EKELUND, U., *et al.* Physical activity and metabolic risk in individuals with a family history of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.30, n.2, p.337-42. Feb, 2007.

ELMQUIST, J. K., *et al.* From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. **Neuron**, v.22, n.2, p.221-32. Feb, 1999.

ENRIORI, P. J., *et al.* Leptin action in the dorsomedial hypothalamus increases sympathetic tone to brown adipose tissue in spite of systemic leptin resistance. **J Neurosci**, v.31, n.34, p.12189-97. Aug 24, 2011.

ERIKSSON, J., *et al.* Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**, v.40, n.2, p.125-35. Feb, 1997.

EVES, N. D. & R. C. PLOTNIKOFF. Resistance training and type 2 diabetes: Considerations for implementation at the population level. **Diabetes Care**, v.29, n.8, p.1933-41. Aug, 2006.

EWING, D. J., *et al.* Vascular reflexes in diabetic autonomic neuropathy. **Lancet**, v.2, n.7842, p.1354-6. Dec 15, 1973.

EWING, D. J., *et al.* The natural history of diabetic autonomic neuropathy. **Q J Med**, v.49, n.193, p.95-108. Winter, 1980.

EWING, D. J., *et al.* Cardiovascular responses to sustained handgrip in normal subjects and in patients with diabetes mellitus: a test of autonomic function. **Clin Sci Mol Med**, v.46, n.3, p.295-306. Mar, 1974.

FAZAN, R., JR., *et al.* Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats. **Hypertension**, v.30, n.3 Pt 2, p.632-5. Sep, 1997.

FERNANDES, T., *et al.* Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory MicroRNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin ii, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). **Hypertension**, v.58, n.2, p.182-9. Aug, 2011.

FERNANDEZ-REAL, J. M. & W. RICART. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. **Endocr Rev**, v.24, n.3, p.278-301. Jun, 2003.

FERRARIO, C. M. New physiological concepts of the renin-angiotensin system from the investigation of precursors and products of angiotensin I metabolism. **Hypertension**, v.55, n.2, p.445-52. Feb, 2010.

FERRARIO, C. M., *et al.* Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.289, n.6, p.H2281-90. Dec, 2005.

FILHO, A. G., *et al.* Selective increase of angiotensin(1-7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training. **Exp Physiol**, v.93, n.5, p.589-98. May, 2008.

FIORENTINI, A., *et al.* Circadian rhythm of autonomic activity in non diabetic offsprings of type 2 diabetic patients. **Cardiovasc Diabetol**, v.4, p.15, 2005.

FLECK, S. J. & W. J. KRAMER. Fundamentos do treinamento de força. 1999.

FLOHE, L. & W. A. GUNZLER. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v.105, p.114-21, 1984.

FLOREZ, H., *et al.* C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome. **Diabetes Res Clin Pract**, v.71, n.1, p.92-100. Jan, 2006.

FLUES, K., *et al.* Exercise training associated with estrogen therapy induced cardiovascular benefits after ovarian hormones deprivation. **Maturitas**, v.65, n.3, p.267-71. Mar, 2010.

FORJAZ, C. L. M., *et al.* Exercício físico para o paciente hipertenso: indicação ou contra-indicação. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.10, p.119-124, 2003.

FORTEPIANI, L. A. & J. F. RECKELHOFF. Increasing oxidative stress with molsidomine increases blood pressure in genetically hypertensive rats but not normotensive controls. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.289, n.3, p.R763-70. Sep, 2005.

FOSS, C. H., *et al.* Autonomic neuropathy in nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects is associated with urinary albumin excretion rate and 24-h ambulatory blood pressure: the Fredericia Study. **Diabetes**, v.50, n.3, p.630-6. Mar, 2001.

FRANCHINI, K. G. & E. M. KRIEGER. Bradycardic responses to vagal stimulation and methacholine injection in sinoaortic denervated rats. **Braz J Med Biol Res**, v.22, n.6, p.757-60, 1989.

FRIEDMAN, J. M. & J. L. HALAAS. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v.395, n.6704, p.763-70. Oct 22, 1998.

FRONTERA, W. R., *et al.* Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. **J Appl Physiol** (1985), v.88, n.4, p.1321-6. Apr, 2000.

FURLAN, R., *et al.* Early and late effects of exercise and athletic training on neural mechanisms controlling heart rate. **Cardiovasc Res**, v.27, n.3, p.482-8. Mar, 1993.

GAO, L., *et al.* Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure. **Circulation**, v.115, n.24, p.3095-102. Jun 19, 2007.

GARCIA, C., *et al.* Diabetes and inflammation: fundamental aspects and clinical implications. **Diabetes Metab**, v.36, n.5, p.327-38. Nov, 2010.

GEISSMANN, F., *et al.* Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. **Science**, v.327, n.5966, p.656-61. Feb 5, 2010.

GIANNATTASIO, C., *et al.* Increased arterial stiffness in normoglycemic normotensive offspring of type 2 diabetic parents. **Hypertension**, v.51, n.2, p.182-7. Feb, 2008.

GLUSHAKOVA, O., *et al.* Fructose induces the inflammatory molecule ICAM-1 in endothelial cells. **J Am Soc Nephrol**, v.19, n.9, p.1712-20. Sep, 2008.

GOLDFINE, A. B., *et al.* Family history of diabetes is a major determinant of endothelial function. **J Am Coll Cardiol**, v.47, n.12, p.2456-61. Jun 20, 2006.

GOMES-SANTOS, I. L., *et al.* Effects of exercise training on circulating and skeletal muscle renin-angiotensin system in chronic heart failure rats. **PLoS One**, v.9, n.5, p.e98012, 2014.

GOODPASTER, B. H., *et al.* Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. **J Appl Physiol (1985)**, v.105, n.5, p.1498-503. Nov, 2008.

GOODYEAR, L. J. & B. B. KAHN. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annu Rev Med**, v.49, p.235-61, 1998.

GORAN, M. I., *et al.* Impaired glucose tolerance and reduced beta-cell function in overweight Latino children with a positive family history for type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, n.1, p.207-12. Jan, 2004.

GORAN, M. I., *et al.* Influence of family history of type 2 diabetes on insulin sensitivity in prepubertal children. **J Clin Endocrinol Metab**, v.88, n.1, p.192-5. Jan, 2003.

GRATTAGLIANO, I., *et al.* Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. **J Nutr Biochem**, v.19, n.8, p.491-504. Aug, 2008.

GREGERSEN, G. Diabetic neuropathy: influence of age, sex, metabolic control, and duration of diabetes on motor conduction velocity. **Neurology**, v.17, n.10, p.972-80. Oct, 1967.

GRUNDLEGER, M. L., *et al.* Age-dependent development of insulin resistance of soleus muscle in genetically obese (ob/ob) mice. **Am J Physiol**, v.239, n.5, p.E363-71. Nov, 1980.

GRYGLEWSKI, R. J., *et al.* Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. **Nature**, v.320, n.6061, p.454-6. Apr 3-9, 1986.

GU, Q., *et al.* Contribution of renin-angiotensin system to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. **Cardiovasc Pathol**, v.23, n.5, p.298-305. Sep-Oct, 2014.

HAFFNER, S. M. Cardiovascular risk factors and the prediabetic syndrome. **Ann Med**, v.28, n.4, p.363-70. Aug, 1996.

HAGBERG, M., *et al.* Rehabilitation of neck-shoulder pain in women industrial workers: a randomized trial comparing isometric shoulder endurance training with isometric shoulder strength training. **Arch Phys Med Rehabil**, v.81, n.8, p.1051-8. Aug, 2000.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J Neurochem**, v.59, n.5, p.1609-23. Nov, 1992.

_____. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**, v.35, n.Pt 5, p.1147-50. Nov, 2007.

HARTHMANN, A. D., *et al.* Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci**, v.133, n.2, p.115-20. May 30, 2007.

HASKELL, W. L., *et al.* Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v.116, n.9, p.1081-93. Aug 28, 2007.

HASTY, A. H., *et al.* Severe hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, and atherosclerosis in mice lacking both leptin and the low density lipoprotein receptor. **J Biol Chem**, v.276, n.40, p.37402-8. Oct 5, 2001.

HAUSER, C., *et al.* Estratégias para o emagrecimento. . **Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum**, v.6, p.72-81, 2004.

HAYASHI, N., *et al.* The counterregulating role of ACE2 and ACE2-mediated angiotensin 1-7 signaling against angiotensin II stimulation in vascular cells. **Hypertens Res**, v.33, n.11, p.1182-5. Nov, 2010.

Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Circulation**, v.93, n.5, p.1043-65. Mar 1, 1996.

HEEREN, M. V., *et al.* Exercise improves cardiovascular control in a model of dislipidemia and menopause. **Maturitas**, v.62, n.2, p.200-4. Feb 20, 2009.

HICKSON, R. C., *et al.* Potential for strength and endurance training to amplify endurance performance. **J Appl Physiol (1985)**, v.65, n.5, p.2285-90. Nov, 1988.

HILSTED, J., *et al.* Impaired cardiovascular responses to graded exercise in diabetic autonomic neuropathy. **Diabetes**, v.28, n.4, p.313-9. Apr, 1979.

HILZENDEGER, A. M., *et al.* Autonomic dysregulation in ob/ob mice is improved by inhibition of angiotensin-converting enzyme. **J Mol Med**, v.88, n.4, p.383-90. Apr, 2010.

HOELDTKE, R. D., *et al.* Oxidative stress and autonomic nerve function in early type 1 diabetes. **Clin Auton Res**, v.21, n.1, p.19-28. Feb, 2011.

HOTAMISLIGIL, G. S., *et al.* Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. **J Clin Invest**, v.94, n.4, p.1543-9. Oct, 1994.

HU, F. B., *et al.* Walking compared with vigorous physical activity and risk of type 2 diabetes in women: a prospective study. **JAMA**, v.282, n.15, p.1433-9. Oct 20, 1999.

HULENS, M., *et al.* Predictors of 6-minute walk test results in lean, obese and morbidly obese women. **Scand J Med Sci Sports**, v.13, n.2, p.98-105. Apr, 2003.

HUNG, J., *et al.* Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.25, n.6, p.1268-73. Jun, 2005.

IELLAMO, F., *et al.* Conversion from vagal to sympathetic predominance with strenuous training in high-performance world class athletes. **Circulation**, v.105, n.23, p.2719-24. Jun 11, 2002.

IGASE, M., *et al.* Angiotensin II AT1 receptors regulate ACE2 and angiotensin-(1-7) expression in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.289, n.3, p.H1013-9. Sep, 2005.

INOGUCHI, T., *et al.* High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. **Diabetes**, v.49, n.11, p.1939-45. Nov, 2000.

IRIGOYEN, M. C., *et al.* Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. **Hypertension**, v.26, n.6 Pt 2, p.1111-6. Dec, 1995.

IRIGOYEN, M. C., *et al.* Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v.46, n.4, p.998-1003. Oct, 2005.

IRIGOYEN, M. C. L., S.; DE ANGELIS, K.; MICHELINI L.C. Fisiopatologia da Hipertensão. O que avançamos? **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, 2003.

IVY, J. L. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Sports Med**, v.24, n.5, p.321-36. Nov, 1997.

JAMES, W. P. A public health approach to the problem of obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.19 Suppl 3, p.S37-45. Sep, 1995.

JANSZKY, I., *et al.* Inflammatory markers and heart rate variability in women with coronary heart disease. **J Intern Med**, v.256, n.5, p.421-8. Nov, 2004.

JENKINS, R. R. The role of superoxide dismutase and catalase in muscle fatigue **Biochemistry of Exercise**, p.467-471, 1983.

JI, J., *et al.* Pathologic changes of Achilles tendon in leptin-deficient mice. **Rheumatol Int**, v.30, n.4, p.489-93. Feb, 2010.

JOAQUIM, L. F., *et al.* Variabilidade da pressão arterial e frequência cardíaca, e sensibilidade do barorreflexo, em animais geneticamente manipulados. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12, p.36-40, 2005.

JOAQUIM, L. S., HC.; FAZAN, R. Variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca, e sensibilidade do barorreflexo, em animais geneticamente manipulados. **Revista Brasileira de Hipertensão**, 2005.

JORGE, L., *et al.* Cardiac and peripheral adjustments induced by early exercise training intervention were associated with autonomic improvement in infarcted rats: role in functional capacity and mortality. **Eur Heart J**, v.32, n.7, p.904-12. Apr, 2011.

JORGE, M. L., *et al.* The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**. Mar 3, 2011.

JUHAN-VAGUE, I., *et al.* Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. **Diabetologia**, v.34, n.7, p.457-62. Jul, 1991.

JUNOD, A., *et al.* Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.126, n.1, p.201-5. Oct, 1967.

KAHN, B. B., *et al.* AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. **Cell Metab**, v.1, n.1, p.15-25. Jan, 2005.

KAJITANI, N., *et al.* Microinflammation is a common risk factor for progression of nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v.88, n.2, p.171-6. May, 2010.

KAMBER, M., *et al.* Angiotensin II inhibitor facilitates epidermal wound regeneration in diabetic mice. **Front Physiol**, v.6, p.170, 2015.

KAR, S., *et al.* Exercise training normalizes ACE and ACE2 in the brain of rabbits with pacing-induced heart failure. **J Appl Physiol (1985)**, v.108, n.4, p.923-32. Apr, 2010.

KASHYAP, S., *et al.* A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes. **Diabetes**, v.52, n.10, p.2461-74. Oct, 2003.

KELLEY, G. A. & K. S. KELLEY. Progressive resistance exercise and resting blood pressure : A meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v.35, n.3, p.838-43. Mar, 2000.

KIM, J. W., *et al.* Treadmill exercise ameliorates diabetes-induced increases in lipid peroxidation and decreases in Cu,Zn-superoxide dismutase levels in the hippocampus of Zucker diabetic fatty rats. **J Vet Sci**. Oct 8, 2014.

KIRWAN, J. P., *et al.* Endurance exercise training reduces glucose-stimulated insulin levels in 60- to 70-year-old men and women. **J Gerontol**, v.48, n.3, p.M84-90. May, 1993.

KOJDA, G. & R. HAMBRECHT. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? **Cardiovasc Res**, v.67, n.2, p.187-97. Aug 1, 2005.

KRAMKOWSKI, K., *et al.* The physiological significance of the alternative pathways of angiotensin II production. **J Physiol Pharmacol**, v.57, n.4, p.529-39. Dec, 2006.

KUCZMARSKI, R. J. Prevalence of overweight and weight gain in the United States. **Am J Clin Nutr**, v.55, n.2 Suppl, p.495S-502S. Feb, 1992.

KUSKOWSKA-WOLK, A. & R. BERGSTROM. Trends in body mass index and prevalence of obesity in Swedish women 1980-89. **J Epidemiol Community Health**, v.47, n.3, p.195-9. Jun, 1993.

LA ROVERE, M. T., *et al.* Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. **Lancet**, v.351, n.9101, p.478-84. Feb 14, 1998.

LA ROVERE, M. T., *et al.* Autonomic nervous system adaptations to short-term exercise training. **Chest**, v.101, n.5 Suppl, p.299S-303S. May, 1992.

LAROSE, J., *et al.* Effect of exercise training on physical fitness in type II diabetes mellitus. **Med Sci Sports Exerc**, v.42, n.8, p.1439-47. Aug, 2010.

LAU, D. C. Diabetes and weight management. **Prim Care Diabetes**, v.4 Suppl 1, p.S24-30. Apr, 2010.

LEFEBVRE, P. [Diabetes yesterday, today and tomorrow. The action of the International Diabetes Federation]. **Rev Med Liege**, v.60, n.5-6, p.273-7. May-Jun, 2005.

LEVITT, N. S., *et al.* The natural progression of autonomic neuropathy and autonomic function tests in a cohort of people with IDDM. **Diabetes Care**, v.19, n.7, p.751-4. Jul, 1996.

LI, Z., *et al.* Oxygen-derived free radicals contribute to baroreceptor dysfunction in atherosclerotic rabbits. **Circ Res**, v.79, n.4, p.802-11. Oct, 1996.

LIMA, R. M., *et al.* Fat-free mass, strength, and sarcopenia are related to bone mineral density in older women. **J Clin Densitom**, v.12, n.1, p.35-41. Jan-Mar, 2009.

LINDPAINTNER, K. & D. GANTEN. The cardiac renin-angiotensin system. An appraisal of present experimental and clinical evidence. **Circ Res**, v.68, n.4, p.905-21. Apr, 1991.

LINDSAY, R. S., *et al.* Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. **Lancet**, v.360, n.9326, p.57-8. Jul 6, 2002.

LINDSTROM, P. The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice]. **ScientificWorldJournal**, v.7, p.666-85, 2007.

LIU, J. L., *et al.* Chronic exercise reduces sympathetic nerve activity in rabbits with pacing-induced heart failure: A role for angiotensin II. **Circulation**, v.102, n.15, p.1854-62. Oct 10, 2000.

LLESUY, S. F., *et al.* Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **Tumori**, v.71, n.3, p.241-9. Jun 30, 1985.

LOIMAALA, A., *et al.* Accuracy of a novel real-time microprocessor QRS detector for heart rate variability assessment. **Clin Physiol**, v.19, n.1, p.84-8. Jan, 1999.

LONNQVIST, F., *et al.* Catecholamine-induced lipolysis in adipose tissue of the elderly. **J Clin Invest**, v.85, n.5, p.1614-21. May, 1990.

LORD, J. M. & T. W. ATKINS. Effect of age on hepatocyte and soleus muscle insulin receptor binding in lean and genetically obese diabetic (ob/ob) mice. **Diabetes Res**, v.2, n.5, p.259-65. Sep, 1985.

LOWRY, O. H., *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v.193, n.1, p.265-75. Nov, 1951.

LUNDGREN, C. H., *et al.* Elaboration of type-1 plasminogen activator inhibitor from adipocytes. A potential pathogenetic link between obesity and cardiovascular disease. **Circulation**, v.93, n.1, p.106-10. Jan 1, 1996.

MAEDA, C. Y., *et al.* Streptozotocin diabetes modifies arterial pressure and baroreflex sensitivity in rats. **Braz J Med Biol Res**, v.28, n.4, p.497-501. Apr, 1995.

MAFFEI, M., *et al.* Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nat Med**, v.1, n.11, p.1155-61. Nov, 1995.

MAIORANA, A., *et al.* Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v.56, n.2, p.115-23. May, 2002.

MANCIA, G., *et al.* [Hemodynamics and pressure variability in isolated systolic hypertension]. **Cardiologia**, v.39, n.12 Suppl 1, p.247-50. Dec, 1994.

MANSON, J. E., *et al.* A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. **N Engl J Med**, v.322, n.13, p.882-9. Mar 29, 1990.

MARCONDES, F. K., *et al.* Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz J Biol**, v.62, n.4A, p.609-14. Nov, 2002.

MARRA, G., *et al.* Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. **Diabetes Care**, v.25, n.2, p.370-5. Feb, 2002.

MARWICK, T. H., *et al.* Exercise training for type 2 diabetes mellitus: impact on cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v.119, n.25, p.3244-62. Jun 30, 2009.

MASSIERA, F., *et al.* Adipose angiotensinogen is involved in adipose tissue growth and blood pressure regulation. **FASEB J**, v.15, n.14, p.2727-9. Dec, 2001.

MEDIANO, M. F. F., *et al.* Comportamento subagudo da pressão arterial após o treinamento de força em hipertensos controlados. . **Rev bras med espor**, v.11, p.337, 2005.

MENG, W. & D. W. BUSIJA. Comparative effects of angiotensin-(1-7) and angiotensin II on piglet pial arterioles. **Stroke**, v.24, n.12, p.2041-4; discussion 2045. Dec, 1993.

MILLER, J. P., *et al.* Strength training increases insulin action in healthy 50- to 65-yr-old men. **J Appl Physiol (1985)**, v.77, n.3, p.1122-7. Sep, 1994.

MIYATAKE, N., *et al.* Clinical evaluation of muscle strength in 20-79-years-old obese Japanese. **Diabetes Res Clin Pract**, v.48, n.1, p.15-21. Apr, 2000.

MIZUNO, T., *et al.* Insulin resistance increases circulating malondialdehyde-modified LDL and impairs endothelial function in healthy young men. **Int J Cardiol**, v.97, n.3, p.455-61. Dec, 2004.

MONCADA, S., *et al.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev**, v.43, n.2, p.109-42. Jun, 1991.

MONTANI, J. P., *et al.* Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.26 Suppl 2, p.S28-38. Sep, 2002.

MOSCA, L., *et al.* Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. **Circulation**, v.115, n.11, p.1481-501. Mar 20, 2007.

MOSTARDA, C., *et al.* Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. **Auton Neurosci**, v.145, n.1-2, p.11-6. Jan 28, 2009.

MUIR, A., *et al.* The pathogenesis, prediction, and prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v.21, n.2, p.199-219. Jun, 1992.

MUST, A., *et al.* The disease burden associated with overweight and obesity. **JAMA**, v.282, n.16, p.1523-9. Oct 27, 1999.

MYKKANEN, L., *et al.* Association of obesity and distribution of obesity with glucose tolerance and cardiovascular risk factors in the elderly. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.16, n.9, p.695-704. Sep, 1992.

NAHRENDORF, M., *et al.* Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. **Circulation**, v.121, n.22, p.2437-45. Jun 8, 2010.

NAKAGAWA, T., *et al.* Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. **Nat Clin Pract Nephrol**, v.1, n.2, p.80-6. Dec, 2005.

NATHAN, D. M., *et al.* Postprandial insulin profiles with implantable pump therapy may explain decreased frequency of severe hypoglycemia, compared with intensive subcutaneous regimens, in insulin-dependent diabetes mellitus patients. **Am J Med**, v.100, n.4, p.412-7. Apr, 1996.

NEGRAO, C. E. M., E.D.; SANTOS, M.C.L.M.; FARAH, V.M.A.; KRIEGER, E.M. Vagal function impairment after exercise training. **Journal of Applied Phisyology**, v.72, 1992.

NIAKAN, E., *et al.* Silent myocardial infarction and diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. **Arch Intern Med**, v.146, n.11, p.2229-30. Nov, 1986.

NONOGAKI, K. New insights into sympathetic regulation of glucose and fat metabolism. **Diabetologia**, v.43, n.5, p.533-49. May, 2000.

NORDMANN, R. Alcohol and antioxidant systems. **Alcohol Alcohol**, v.29, n.5, p.513-22. Sep, 1994.

OLIVEIRA, R. J., *et al.* Identification of sarcopenic obesity in postmenopausal women: a cutoff proposal. **Braz J Med Biol Res**, v.44, n.11, p.1171-6. Nov, 2011.

ORIE, N. N., *et al.* Reactive oxygen species in essential hypertension and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Am J Hypertens**, v.12, n.12 Pt 1-2, p.1169-74. Dec, 1999.

OSBORN, B. A., *et al.* Exercise training increases sarcolemmal GLUT-4 protein and mRNA content in diabetic heart. **J Appl Physiol (1985)**, v.82, n.3, p.828-34. Mar, 1997.

OSEI, S. Y., *et al.* Differential responses to angiotensin-(1-7) in the feline mesenteric and hindquarters vascular beds. **Eur J Pharmacol**, v.234, n.1, p.35-42. Mar 30, 1993.

OUDIT, G. Y., *et al.* Human recombinant ACE2 reduces the progression of diabetic nephropathy. **Diabetes**, v.59, n.2, p.529-38. Feb, 2010.

OZATA, M., *et al.* Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.10, p.3686-95. Oct, 1999.

PAGKALOS, M., *et al.* Heart rate variability modifications following exercise training in type 2 diabetic patients with definite cardiac autonomic neuropathy. **Br J Sports Med**, v.42, n.1, p.47-54. Jan, 2008.

PALMER, N. O., *et al.* Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.302, n.7, p.E768-80. Apr 1, 2012.

PALMIERI, V. O., *et al.* Systemic oxidative alterations are associated with visceral adiposity and liver steatosis in patients with metabolic syndrome. **J Nutr**, v.136, n.12, p.3022-6. Dec, 2006.

PARISE, G., *et al.* Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. **Free Radic Biol Med**, v.39, n.2, p.289-95. Jul 15, 2005.

PATE, R. R., *et al.* Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **JAMA**, v.273, n.5, p.402-7. Feb 1, 1995.

PAULO, A. C., *et al.* Efeito do treinamento concorrente no desenvolvimento da força motora e da resistência aeróbia. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v.4, p.145-154, 2005.

PAZDRO, R. & J. R. BURGESS. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. **Mech Ageing Dev**, v.131, n.4, p.276-86. Apr, 2010.

PEARSON, T. A., *et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v.107, n.3, p.499-511. Jan 28, 2003.

PEDERSEN, B. K. & C. P. FISCHER. Beneficial health effects of exercise--the role of IL-6 as a myokine. **Trends Pharmacol Sci**, v.28, n.4, p.152-6. Apr, 2007.

PEDERSEN, B. K. & B. SALTIN. Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. **Scand J Med Sci Sports**, v.16 Suppl 1, p.3-63. Feb, 2006.

PEREIRA, D. S., QUEIROZ, B.Z., MATEO, E.C., ASSUMPÇÃO, A.M., FELÍCIO, D.C., MIRANDA, A.S., ANJOS, D.M., JESUS-MORALEIDA, F., DIAS, R.C., PEREIRA, D.A., TEIXEIRA, A.L., PEREIRA, L.S. Interaction between cytokine gene polymorphisms and the effect of physical exercise on clinical and inflammatory parameters in older women: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, 2012.

PEREIRA, M. G., *et al.* Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. **Eur J Appl Physiol**, v.105, n.6, p.843-50. Apr, 2009.

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

PETERSEN, K. F., *et al.* Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. **N Engl J Med**, v.350, n.7, p.664-71. Feb 12, 2004.

PICKUP, J. C. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.27, n.3, p.813-23. Mar, 2004.

PICKUP, J. C. & G. WILLIAMS. Chronic Complications of Diabetes. 1994.

PLOTNIKOFF, R. C., *et al.* Multicomponent, home-based resistance training for obese adults with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. **Int J Obes (Lond)**, v.34, n.12, p.1733-41. Dec, 2010.

POLLOCK, M. L. & K. R. VINCENT. Resistance training for health. **The president's Council on Physical Fitness and Sports Research Digest**, 1996.

POLYDEFKIS, M., *et al.* New insights into diabetic polyneuropathy. **JAMA**, v.290, n.10, p.1371-6. Sep 10, 2003.

PORSTI, I., *et al.* Release of nitric oxide by angiotensin-(1-7) from porcine coronary endothelium: implications for a novel angiotensin receptor. **Br J Pharmacol**, v.111, n.3, p.652-4. Mar, 1994.

POTTER VAN LOON, B. J., *et al.* The cardiovascular risk factor plasminogen activator inhibitor type 1 is related to insulin resistance. **Metabolism**, v.42, n.8, p.945-9. Aug, 1993.

PRADHAN, A. D., *et al.* Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. **JAMA**, v.288, n.8, p.980-7. Aug 28, 2002.

PUMPRLA, J., *et al.* Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Int J Cardiol**, v.84, n.1, p.1-14. Jul, 2002.

QI, Q., *et al.* Associations of resistin with inflammatory and fibrinolytic markers, insulin resistance, and metabolic syndrome in middle-aged and older Chinese. **Eur J Endocrinol**, v.159, n.5, p.585-93. Nov, 2008.

RABELO, L. A., *et al.* ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas axis and oxidative stress in cardiovascular disease. **Hypertens Res**, v.34, n.2, p.154-60. Feb, 2011.

RAMIRES, P. R., *et al.* Exercise tolerance is lower in type I diabetics compared with normal young men. **Metabolism**, v.42, n.2, p.191-5. Feb, 1993.

RIBEIRO, J. P. & R. S. MORAES FILHO. Variabilidade da Frequência Cardíaca como Instrumento de Investigação do Sistema Nervoso Autônomo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12, p.14-20, 2005.

RIDKER, P. M., *et al.* Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. **Circulation**, v.101, n.18, p.2149-53. May 9, 2000a.

RIDKER, P. M., *et al.* Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v.101, n.15, p.1767-72. Apr 18, 2000b.

RING-DIMITRIOU, S., *et al.* The effect of physical activity and physical fitness on plasma adiponectin in adults with predisposition to metabolic syndrome. **Eur J Appl Physiol**, v.98, n.5, p.472-81. Nov, 2006.

ROHNER-JEANRENAUD, F. & B. JEANRENAUD. [The central nervous system-endocrine pancreas axis]. **Ann Endocrinol (Paris)**, v.44, n.4, p.217-27, 1983.

ROLLO, J. Cases of Diabetes Mellitus: With the Results of the Trials of Certain Acids and Other Substances in the Cure of the Lues Venerea., 1978.

ROMIJN, J. A. & E. FLIERS. Sympathetic and parasympathetic innervation of adipose tissue: metabolic implications. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.8, n.4, p.440-4. Jul, 2005.

RONCHI, F. A., *et al.* Association of somatic and N-domain angiotensin-converting enzymes from Wistar rat tissue with renal dysfunction in diabetes mellitus. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v.8, n.1, p.34-41. Mar, 2007.

ROSEN, P., *et al.* Influence of angiotensin-converting enzyme inhibition by fosinopril on myocardial perfusion in streptozotocin-diabetic rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, v.27, n.1, p.64-70. Jan, 1996.

ROSENBAUM, M., *et al.* beta-Cell function and insulin sensitivity in early adolescence: association with body fatness and family history of type 2 diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, v.89, n.11, p.5469-76. Nov, 2004.

ROSETY-RODRIGUEZ, M., *et al.* Resistance circuit training reduced inflammatory cytokines in a cohort of male adults with Down syndrome. **Med Sci Monit**, v.19, p.949-53, 2013.

RUBANYI, G. M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. **J Cardiovasc Pharmacol**, v.22 Suppl 4, p.S1-14, 1993.

RUSH, J. W. & C. D. AULTMAN. Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.33, n.1, p.162-72. Feb, 2008.

RUSSELL, J. W., *et al.* High glucose-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurons. **FASEB J**, v.16, n.13, p.1738-48. Nov, 2002.

RYAN, A. S. Insulin resistance with aging: effects of diet and exercise. **Sports Med**, v.30, n.5, p.327-46. Nov, 2000.

SAINZ, N., *et al.* Leptin administration downregulates the increased expression levels of genes related to oxidative stress and inflammation in the skeletal muscle of ob/ob mice. **Mediators Inflamm**, v.2010, p.784343, 2010.

SALE, D. G., *et al.* Interaction between concurrent strength and endurance training. **J Appl Physiol**, v.68, n.1, p.260-70. Jan, 1990.

- SALLAM, N., *et al.* Effect of moderate-intensity exercise on plasma C-reactive protein and aortic endothelial function in type 2 diabetic mice. **Mediators Inflamm**, v.2010, p.149678, 2010.
- SAMPSON, M. J., *et al.* Progression of diabetic autonomic neuropathy over a decade in insulin-dependent diabetics. **Q J Med**, v.75, n.278, p.635-46. Jun, 1990.
- SANCHES, I. C. Doença cardiovascular na mulher. **Integração**, 2005.
- SANCHES, I. C., *et al.* Standardization of resistance exercise training: effects in diabetic ovariectomized rats. **Int J Sports Med**, v.35, n.4, p.323-9. Apr, 2014.
- SANCHES, I. C., *et al.* Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v.19, n.5, p.562-8. May, 2012.
- SANCHES, I. C., *et al.* Tonic and reflex cardiovascular autonomic control in trained-female rats. **Braz J Med Biol Res**, v.42, n.10, p.942-8. Oct, 2009.
- SARGEANT, L. A., *et al.* Family history of diabetes identifies a group at increased risk for the metabolic consequences of obesity and physical inactivity in EPIC-Norfolk: a population-based study. The European Prospective Investigation into Cancer. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.24, n.10, p.1333-9. Oct, 2000.
- SARTORI, M., *et al.* Early Impairment on Heart Rate Variability in Offspring of Diabetic Parents: Role of Physically Active Life. **Circulation**, 2009.
- SAVAGE, P. D., *et al.* Reduction in obesity and coronary risk factors after high caloric exercise training in overweight coronary patients. **Am Heart J**, v.146, n.2, p.317-23. Aug, 2003.
- SAYE, J. A., *et al.* Localization of angiotensin peptide-forming enzymes of 3T3-F442A adipocytes. **Am J Physiol**, v.264, n.6 Pt 1, p.C1570-6. Jun, 1993.
- SCHAAN, B. D., *et al.* Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Braz J Med Biol Res**, v.37, n.12, p.1895-902. Dec, 2004.
- SCHEFFER, D. L., *et al.* Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.37, n.6, p.1239-46. Dec, 2012.
- SCHMIDT, M. I., *et al.* Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. **Lancet**, v.353, n.9165, p.1649-52. May 15, 1999.
- SCHROEDER, E. B., *et al.* Diabetes, glucose, insulin, and heart rate variability: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. **Diabetes Care**, v.28, n.3, p.668-74. Mar, 2005.
- SCHULMAN, I. H., *et al.* Interaction between nitric oxide and angiotensin II in the endothelium: role in atherosclerosis and hypertension. **J Hypertens Suppl**, v.24, n.1, p.S45-50. Mar, 2006.

SCHULTZ, H. D. & E. E. USTINOVA. Capsaicin receptors mediate free radical-induced activation of cardiac afferent endings. **Cardiovasc Res**, v.38, n.2, p.348-55. May, 1998.

SCHULZ, E., *et al.* Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. **Hypertens Res**, v.34, n.6, p.665-73. Jun, 2011.

SCHWARTZ, M. W., *et al.* Central nervous system control of food intake. **Nature**, v.404, n.6778, p.661-71. Apr 6, 2000.

SECHI, L. A., *et al.* The cardiac renin-angiotensin system in STZ-induced diabetes. **Diabetes**, v.43, n.10, p.1180-4. Oct, 1994.

SENADOR, D., *et al.* Cardiovascular and autonomic phenotype of db/db diabetic mice. **Exp Physiol**, v.94, n.6, p.648-58. Jun, 2009.

SHANGOLD, M. M. Exercise in the menopausal woman. **Obstet Gynecol**, v.75, n.4 Suppl, p.53S-58S; discussion 81S-83S. Apr, 1990.

SHEIKH-ALI, M., *et al.* The antioxidant paradox in diabetes mellitus. **Am J Ther**, v.18, n.3, p.266-78. May, 2011.

SHIMAZU, T. Innervation of the liver and glucoregulation: roles of the hypothalamus and autonomic nerves. **Nutrition**, v.12, n.1, p.65-6. Jan, 1996.

SIEGRIST-KAISER, C. A., *et al.* Direct effects of leptin on brown and white adipose tissue. **J Clin Invest**, v.100, n.11, p.2858-64. Dec 1, 1997.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress **Angew ChemInt Ed Engl**, v.25, p.1058-1071, 1986.

SIGAL, R. J., *et al.* Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. **Ann Intern Med**, v.147, n.6, p.357-69. Sep 18, 2007.

SIGAL, R. J., *et al.* Physical activity/exercise and type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.27, n.10, p.2518-39. Oct, 2004.

SILVA, G. J., *et al.* Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.30, n.3 Pt 2, p.714-9. Sep, 1997.

SILVA, S. D., JR., *et al.* Downregulation of the vascular renin-angiotensin system by aerobic training - focus on the balance between vasoconstrictor and vasodilator axes. **Circ J**, v.79, n.6, p.1372-80, 2015.

SMITH, M. L., *et al.* Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. **Med Sci Sports Exerc**, v.21, n.1, p.40-4. Feb, 1989.

SMITH, P. M., *et al.* The subfornical organ: a central nervous system site for actions of circulating leptin. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.296, n.3, p.R512-20. Mar, 2009.

SOARES, P. P., *et al.* Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton Neurosci**, v.113, n.1-2, p.24-31. Jun 30, 2004.

SOUZA, S. B., *et al.* Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. **Hypertension**, v.50, n.4, p.786-91. Oct, 2007.

SPALLONE, V., *et al.* Autonomic neuropathy and cardiovascular risk factors in insulin-dependent and non insulin-dependent diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v.34, n.3, p.169-79. Jan, 1997.

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

SRINIVASA, S., *et al.* RAAS Activation Is Associated With Visceral Adiposity and Insulin Resistance Among HIV-infected Patients. **J Clin Endocrinol Metab**, v.100, n.8, p.2873-82. Aug, 2015.

STRASSER, B., *et al.* Resistance training in the treatment of the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of the effect of resistance training on metabolic clustering in patients with abnormal glucose metabolism. **Sports Med**, v.40, n.5, p.397-415. May 1, 2010.

STUNKARD, A. J., *et al.* The body-mass index of twins who have been reared apart. **N Engl J Med**, v.322, n.21, p.1483-7. May 24, 1990.

SU, D. F. & C. Y. MIAO. Blood pressure variability and organ damage. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.28, n.9, p.709-15. Sep, 2001.

SWELLAM, M., *et al.* Clinical implications of adiponectin and inflammatory biomarkers in type 2 diabetes mellitus. **Dis Markers**, v.27, n.6, p.269-78, 2009.

SZCZYPKA, M. S., *et al.* Dopamine is required for hyperphagia in Lep(ob/ob) mice. **Nat Genet**, v.25, n.1, p.102-4. May, 2000.

TANASESCU, M., *et al.* Exercise type and intensity in relation to coronary heart disease in men. **JAMA**, v.288, n.16, p.1994-2000. Oct 23-30, 2002.

TANTUCCI, C., *et al.* Ventilatory response to exercise in diabetic subjects with autonomic neuropathy. **J Appl Physiol (1985)**, v.81, n.5, p.1978-86. Nov, 1996.

TAO, X., *et al.* Angiotensin-(1-7) attenuates angiotensin II-induced signalling associated with activation of a tyrosine phosphatase in Sprague-Dawley rats cardiac fibroblasts. **Biol Cell**, v.106, n.6, p.182-92. Jun, 2014.

TAPSELL, L. C., *et al.* Including walnuts in a low-fat/modified-fat diet improves HDL cholesterol-to-total cholesterol ratios in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.27, n.12, p.2777-83. Dec, 2004.

TAVERNIER, G., *et al.* Norepinephrine induces lipolysis in beta1/beta2/beta3-adrenoceptor knockout mice. **Mol Pharmacol**, v.68, n.3, p.793-9. Sep, 2005.

TESANOVIC, S., *et al.* Vasoprotective and atheroprotective effects of angiotensin (1-7) in apolipoprotein E-deficient mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.30, n.8, p.1606-13. Aug, 2010.

THIRUNAVUKKARASU, V., *et al.* Influence of 6-week exercise training on erythrocyte and liver antioxidant defense in hyperinsulinemic rats. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v.135, n.1, p.31-7. May, 2003.

THOMAS, D. E., *et al.* Exercise for type 2 diabetes mellitus. **Cochrane Database Syst Rev**, n.3, p.CD002968, 2006.

TIEDGE, M., *et al.* Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. **Diabetes**, v.46, n.11, p.1733-42. Nov, 1997.

TIPTON, C. M. Exercise, training and hypertension: an update. **Exerc Sport Sci Rev**, v.19, p.447-505, 1991.

TRAYHURN, P., *et al.* Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese (ob/ob) mice. **FEBS Lett**, v.368, n.3, p.488-90. Jul 24, 1995.

TUOMILEHTO, J., *et al.* Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N Engl J Med**, v.344, n.18, p.1343-50. May 3, 2001.

UEDA, S., *et al.* Angiotensin-(1-7) attenuates vasoconstriction evoked by angiotensin II but not by noradrenaline in man. **Hypertension**, v.35, n.4, p.998-1001. Apr, 2000.

VAAG, A., *et al.* Metabolic impact of a family history of Type 2 diabetes. Results from a European multicentre study (EGIR). **Diabet Med**, v.18, n.7, p.533-40. Jul, 2001.

VAN GAAL, L. F., *et al.* Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v.444, n.7121, p.875-80. Dec 14, 2006.

VAUHKONEN, I., *et al.* Defects in insulin secretion and insulin action in non-insulin-dependent diabetes mellitus are inherited. Metabolic studies on offspring of diabetic probands. **J Clin Invest**, v.101, n.1, p.86-96. Jan 1, 1998.

VERPLOEGEN, S. A., *et al.* A human leptin mutant induces weight gain in normal mice. **FEBS Lett**, v.405, n.2, p.237-40. Mar 24, 1997.

WAKABAYASHI, S. & Y. ASO. Adiponectin concentrations in sera from patients with type 2 diabetes are negatively associated with sympathovagal balance as evaluated by power spectral analysis of heart rate variation. **Diabetes Care**, v.27, n.10, p.2392-7. Oct, 2004.

WAN, W., *et al.* Effect of post-myocardial infarction exercise training on the renin-angiotensin-aldosterone system and cardiac function. **Am J Med Sci**, v.334, n.4, p.265-73. Oct, 2007.

WATANABE, T., *et al.* Angiotensin II and the endothelium: diverse signals and effects. **Hypertension**, v.45, n.2, p.163-9. Feb, 2005.

WEARING, S. C., *et al.* Musculoskeletal disorders associated with obesity: a biomechanical perspective. **Obes Rev**, v.7, n.3, p.239-50. Aug, 2006.

WHIPPLE, R. H., *et al.* The relationship of knee and ankle weakness to falls in nursing home residents: an isokinetic study. **J Am Geriatr Soc**, v.35, n.1, p.13-20. Jan, 1987.

WHO, W. H. O. Prevalence of Diabetes Among Older Adults in America. 2005.

_____. World Health Statistics 2013.

WICHI, R., *et al.* Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents. **Cardiovasc Diabetol**, v.6, p.14, 2007.

WILLIAMS, M. A., *et al.* Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v.116, n.5, p.572-84. Jul 31, 2007.

WING, R. R., *et al.* Environmental and familial contributions to insulin levels and change in insulin levels in middle-aged women. **JAMA**, v.268, n.14, p.1890-5. Oct 14, 1992.

WITZEL, M. Farmacologia do Diabetes. 2000

WITZEL, M. D. F. Pathology and pathogenesis mechanisms of diabetic neuropathy., v.11. 1995

XU, L. & M. Z. BADR. Enhanced potential for oxidative stress in hyperinsulinemic rats: imbalance between hepatic peroxisomal hydrogen peroxide production and decomposition due to hyperinsulinemia. **Horm Metab Res**, v.31, n.4, p.278-82. Apr, 1999.

YAGIHASHI, S. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy. **Diabetes Metab Rev**, v.11, n.3, p.193-225. Oct, 1995.

YAMAGUCHI, Y., *et al.* Elevated circulating levels of markers of oxidative-nitrative stress and inflammation in a genetic rat model of metabolic syndrome. **Nitric Oxide**, v.15, n.4, p.380-6. Dec, 2006.

YOUNG, P., *et al.* Brown adipose tissue is a major site of glucose utilisation in C57Bl/6 ob/ob mice treated with a thermogenic beta-adrenoceptor agonist. **Biochem Biophys Res Commun**, v.130, n.1, p.241-8. Jul 16, 1985.

ZANUSO, S., *et al.* Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. **Acta Diabetol**, v.47, n.1, p.15-22. Mar, 2010.

ZENGI, A., *et al.* Increased Oxidative DNA Damage in Lean Normoglycemic Offspring of Type 2 Diabetic Patients. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**. Apr 6, 2011.

ZHAN, C. D., *et al.* Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the spontaneously hypertensive rat kidney: effect of antioxidant-rich diet. **J Hypertens**, v.22, n.10, p.2025-33. Oct, 2004.

ZHANG, Y., *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v.372, n.6505, p.425-32. Dec 1, 1994.

ZIPES, D. P. & H. J. WELLENS. Sudden cardiac death. **Circulation**, v.98, n.21, p.2334-51. Nov 24, 1998.

ZOPPINI, G., *et al.* Effect of moderate aerobic exercise on sympatho-vagal balance in Type 2 diabetic patients. **Diabet Med**, v.24, n.4, p.370-6. Apr, 2007.