

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE DOIS PROTOCOLOS DE
EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS
NOS TECIDOS ADIPOSOS MARROM E BRANCO EM RATOS
VELHOS**

**CRICIÚMA
2016**

JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE DOIS PROTOCOLOS DE
EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS
NOS TECIDOS ADIPOSOS MARROM E BRANCO EM RATOS
VELHOS**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde para obtenção do
título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Teodoro
de Souza

**CRICIÚMA
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Q3a Queiroz, João Anníbal Milano Peixoto.
Avaliação dos efeitos de dois protocolos de exercício físico sobre parâmetros metabólicos nos tecidos adiposos marrom e branco em ratos velhos / João Anníbal Milano Peixoto Queiroz ; orientador : Claudio Teodoro de Souza. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2016.
56 p. : il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2016.

1. Envelhecimento. 2. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos. 3. Metabolismo. 4. Tecido adiposo marrom. 5. Tecido adiposo branco. I. Título.

CDD 22. ed. 613.70446

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla – CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão.


Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNC – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 260

Com início às 14h00 (quatorze horas) do dia onze do mês de agosto de 2016 (dois mil e dezesseis), realizou-se, no bloco S, sala 25 na Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), o seminário formal de apresentação dos resultados da dissertação de Mestrado de **João Aníbal Milano Peixoto Quelroz**, sob a orientação do Prof. Dr. Claudio Teodoro de Souza, intitulada “**Avaliação dos efeitos de dois protocolos de exercício físico sobre parâmetros metabólicos nos tecidos adiposos marrom e branco em ratos velhos**”. A dissertação foi examinada por uma banca examinadora constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Paulo César Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado; Prof. Dr. Alexandre Pastoris Müller (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado e Prof. Dr. Eduardo Rockete Ropelle (Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: **APROVADO**, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 15h00 (quinze horas), dos quais eu, Diana Ghisi Daniel, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavei a presente ata, que assino juntamente com o Prof. Dr. Claudio Teodoro de Souza Coordenador do Programa. Criciúma, 11 (onze) de agosto de 2016 (dois mil e dezesseis).


Prof. Dr. Claudio Teodoro de Souza
Coordenador do PPCCS

Diana Ghisi Daniel
Auxiliar Administrativo PPCCS
Diana Ghisi
Diana Ghisi Daniel
Secretária

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

**À minha família, meu bem
maior.**

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, fundamentais para a construção da dissertação, em especial: Thaís, Vitor, Daniela, Schérolin e Bruno. Aos demais integrantes de nosso grupo (Lara, Hemelin, Matheus e Gabriela), pela dedicação e apoio com os experimentos. Aos demais componentes do Lafibe, principalmente Gustavo e Fernando, que, além de amigos, foram peças fundamentais na pesquisa.

Ao Professor Claudio, pela condução do trabalho e ensinamentos transmitidos durante o mestrado. Ao Professor Paulo, pela amizade, comprometimento e empenho demonstrados para a conclusão do meu estudo. A honra por tê-los comigo neste momento é inenarrável.

Aos meus amigos e alunos da Q2, que, mesmo com minha ausência em vários momentos, se mostraram fiéis e cúmplices desta conquista.

Por fim, à minha família: Helenice, João Luiz e João Gabriel. Esta conquista só foi possível pelo amor, apoio e suporte que recebo de vocês por toda a minha vida. Amo vocês!

*“Se quisermos progredir, não
devemos repetir a história, e sim,
criarmos uma história nova.”*

Mahatma Gandhi

RESUMO

Com o envelhecimento, O envelhecimento é um processo inerente a todos os seres vivos e seu desenvolvimento é inevitável e irreversível. nota-se uma redução da atividade mitocondrial e diversas mudanças na composição corporal dos seres vivos. A disfunção da atividade mitocondrial supracitada provoca alterações e adaptações em tecidos de características anabólicas, dentre eles, pode-se citar o tecido adiposo marrom. Este tecido tem como função principal a oxidação lipídica para a produção de calor, sendo assim, é especializado na termogênese adaptativa induzida por fatores ambientais, como o exercício físico. Sabe-se que o exercício provoca uma série de adaptações metabólicas, contudo, ainda não há um consenso na comunidade acadêmica sobre a maior eficiência de modalidades e intensidades de estímulos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos metabólicos de dois protocolos de exercício físico sobre os tecidos adiposos branco e marrom em ratos velhos. Os ratos foram divididos em dois grupos controle: controle jovem (N=5) e controle velho (N=5) e em dois grupos de exercício físico: treinamento de corrida em esteira (N=5) e treinamento resistido de força muscular (N=5). Os ratos participaram de 8 semanas de exercícios físicos e foram avaliados parâmetros de composição corporal, atividade e biogênese mitocondrial, atividade da cadeia respiratória, molécula envolvida na transdução do sinal insulínico e molécula de marcador inflamatório. Os resultados mostraram que os protocolos de exercício físico diminuíram significativamente o índice de adiposidade em ratos velhos. Também ambos os protocolos induziram um aumento das moléculas reguladoras de atividade e biogênese mitocondrial, aumento da atividade da cadeia respiratória e aumento na molécula reguladora da transdução do sinal insulínico. O estudo evidenciou que tanto os exercícios de corrida em esteira e resistido de força muscular conseguiram promover de forma semelhantes, alterações metabólicas significativas em ratos velhos.

Palavras-chave: envelhecimento; exercício físico; tecido adiposo branco; tecido adiposo marrom; metabolismo.

ABSTRACT

Aging is an inherent to all living beings and their development process is inevitable and irreversible. With aging, there is a reduction in mitochondrial activity and several changes in body composition of living beings. The dysfunction of the aforementioned mitochondrial activity causes changes and adaptations in tissue anabolic characteristics, among them, we can mention the brown adipose tissue. This tissue is the main function of lipid oxidation for heat production, therefore, we specialize in adaptive thermogenesis induced by environmental factors, such as exercise. It is known that exercise causes a series of metabolic changes, however, there is still no consensus in the academic community about the most efficient methods and stimulus intensities. Therefore, the aim of this study was to evaluate the metabolic effects of two exercise protocols on adipose white and brown tissue in old mice. The rats were divided into two groups control: young control (N=5) and old control (N=5) and two exercise groups: running treadmill training (N =5) and resistance training muscle strength (N=5). Rats participated in eight weeks of exercise and were evaluated body composition parameters, activity and mitochondrial biogenesis, respiratory chain activity, molecule involved in insulin signal transduction and inflammatory marker molecule. The results showed that the both exercise protocols significantly decreased adiposity index in old rats. Also both protocols induced an increase in regulatory molecules activity and mitochondrial biogenesis, increased respiratory chain activity and increased regulatory molecule of the insulin signal transduction. The study showed that both kind of exercises were able to promote similar way, significant metabolic changes in old rats.

Key words: aging; brown adipose tissue; metabolism; physical exercise; white adipose tissue.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 ANIMAIS.....	20
3.2 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICO.....	20
3.2.1 Treinamento de corrida em esteira	20
3.2.2 Treinamento resistido de força muscular	21
3.3 WESTERN BLOT.....	22
3.4 PESO CORPORAL TOTAL, PESO DO BAT E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE.....	23
3.5 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA.....	23
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
3.7 PROCEDIMENTOS ÉTICOS	24
4 RESULTADOS	25
5 DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A expectativa de vida vem aumentando gradativamente ao longo dos anos no mundo inteiro, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Este fenômeno está associado a inúmeros fatores, como: evolução tecnológica, evolução da medicina, diminuição do número de tabagistas, maior conscientização das pessoas em relação a aspectos de saúde, maior acesso a informação, entre outros (WHO, 2015). Dados da última pesquisa sobre o tema realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), mostraram que a expectativa de vida no Brasil é de aproximadamente 75,2 anos, a maior da história. Ainda conforme o levantamento, as principais causas de morte do brasileiro são: doenças crônicas não transmissíveis e lesões causadas por fatores externos.

Uma das maneiras de ilustrar o envelhecimento da população é a comparação da proporção de pessoas com 60 anos ou mais e a população total do país. Camarano e Kanso (2010) apontaram que tal proporção aumentou de 4% em 1940 para 11% em 2010. Segundo os autores, espera-se que este grupo etário, composto por 20,6 milhões em 2010, atinja um número de 57 milhões em 2040.

A partir disso, o estudo do processo de envelhecimento e suas consequências para o ser humano despertou nas últimas décadas o interesse de inúmeros pesquisadores ao redor do mundo, em especial daqueles que buscam formas de melhorar a qualidade de vida na terceira idade e de amenizar as consequências deletérias do avanço da idade sobre o estado de saúde e bem-estar das pessoas.

O envelhecimento é um processo inerente a todos os seres vivos e seu desenvolvimento é inevitável e irreversível. Este processo é caracterizado por alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e psicológicas que levam a uma diminuição da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente (Araújo et al., 2014). Kilsztajn et al. (2013) mostraram em seu estudo que a longevidade acarreta em alterações no sistema de saúde e na utilização de verbas públicas. A pesquisa mostra que as pessoas com mais de 70 anos são responsáveis por aproximadamente 75% das consultas médicas em unidades básicas de saúde e representam dois terços das internações dos hospitais públicos. Os dados corroboram com o estudo de Chaimowicz (2008), que relacionou maiores prejuízos à saúde em decorrência da diminuição da capacidade funcional e consequente aumento da incapacidade de indivíduos.

A perda da capacidade funcional parece estar associada a diminuição da massa muscular magra e aumento da gordura corporal, processos naturais no decorrer dos anos (Matsudo et al., 2000). Essas informações são baseadas em estudos que demonstraram que a partir dos 40 anos, a perda de massa muscular chega a ser de 5% a cada década, com declínio mais rápido após os 65 anos (Forbes et al., 1970; Tzankoff et al., 1977; Fleg et al., 1988; Janssen et al., 2000). Um dos efeitos mais importantes causados pelo envelhecimento é a redução da função mitocondrial, que gera uma série de adaptações nos seres vivos mais velhos (Lesnefsky e Hoppel, 2006).

Estudos mostram que na velhice, as mitocôndrias se tornam maiores e menos numerosas, acumulando assim, vacúolos e anormalidades em suas funções (Cotrell e Turnbull, 2000). Tais estudos observaram significantes alterações, que incluem redução na capacidade de gerar ATP (Drew et al., 2003), diminuição da atividade da cadeia respiratória (Chabi et al., 2008) e um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Capel et al., 2004; Mansouri et al., 2006; Muller et al., 2007).

Pesquisas têm apontado para três importantes moléculas envolvidas no processo do declínio mitocondrial relacionado ao envelhecimento: a proteína quinase ativada por níveis de AMP (AMPK), regulador silenciador da informação homólogo 1 (SIRT1) e o co-ativador 1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PGC-1 α). No entanto, maiores investigações a cerca dos mecanismos metabólicos relacionados ao envelhecimento são necessárias.

A AMPK é uma molécula heterotrimérica que contém uma subunidade catalítica (α), com duas isoformas ($\alpha 1$ e $\alpha 2$), e duas subunidades regulatórias (β e γ), com as isoformas ($\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$ e $\gamma 3$). Vários estímulos externos, como: exercício físico, hipóxia ou jejum prolongado resultam em aumento da razão intracelular de AMP/ATP e podem ativar a AMPK. Alterações fisiológicas aumentam a relação AMP/ATP, e isso ativa a AMPK (Winder et al., 1997; Sakamoto et al., 2004). Uma vez ativada, a função da AMPK é restaurar o estado energético da célula. Isto ocorre pela ativação de dois principais substratos energéticos, a glicose e os ácidos graxos. Por exemplo, AMPK quando ativada de forma aguda, estimula a captação de glicose (Merrill et al., 1997.; Hayashi et al., 1998) e oxidação de gordura (Merrill et al., 1997), enquanto inibe a síntese de proteínas (Bolster et al., 2002).

Quando cronicamente ativada, a AMPK promove biogênese mitocondrial principalmente, por fosforilar a PGC-1 α (Winder et al., 2000; Bergeron et al., 2001; Suwa et al., 2003). Parece que menor atividade da AMPK pode estar relacionada tanto ao declínio da função mitocondrial quanto ao processo de envelhecimento. Um dos mecanismos pelo qual AMPK estimula a captação de glicose, oxidação de ácidos graxos e biogênese mitocondrial no músculo esquelético, é a ativação da PGC-1 α e das sirtuínas (Canto et al., 2010).

Evidências sugerem que as sirtuínas são reguladoras importantes do envelhecimento (Fulco et al., 2003; Michishita et al., 2005; Ota et al., 2006; Lavu et al., 2008; Canto et al., 2010). Estas, surgem como uma classe única de enzimas envolvidas em um conjunto de processos celulares diretamente relacionados ao envelhecimento e ao balanço energético celular. Pesquisas sugeriram que a SIRT1 está reduzida em células senescentes, supondo que esta sirtuína pode estar envolvida ou mesmo determinar a longevidade (Michishita et al., 2005). Alvo de inúmeros estudos, esta enzima está envolvida na regulação da longevidade e processos metabólicos (Yamamoto et al., 1992).

As sirtuínas regulam diversos processos biológicos, desde reparo do DNA e estabilidade do genoma até homeostase de glicose e lipídios (Haigis et al., 2006; Michan et al., 2007). Shahbazian e Grunstein (2007) publicaram um estudo que mostrou que a SIRT1 tem como alvo um número de fatores de transcrição como PGC-1 α .

A PGC-1 α é uma proteína composta por 798 aminoácidos, inicialmente descrita em tecido adiposo marrom, através de um sistema híbrido em levedura (Puigserver et al., 1998). Essa molécula não se liga ao DNA, mas age através de sua interação (proteína-proteína) com os fatores transcricionais do DNA regulando a expressão gênica. A expressão e a indução pela exposição ao frio evidenciam a participação da PGC-1 α no metabolismo energético e termogênese adaptativa.

Marcadamente, a superexpressão de PGC-1 α pode induzir funções ligadas à biogênese mitocondrial. Assim, a PGC-1 α apresenta uma intrínseca habilidade de interagir com componentes metabólicos. Essa proteína coativa vários receptores nucleares, incluindo o receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR), fator nuclear de hepatócito (HNF4 α), e receptores relacionados a estrógenos (ERR), além do fator respiratório nuclear (NRF) (Handschin e Spiegelman, 2006; Rodgers et al, 2008). Esta ampla variedade capacita PGC-1 α a co-ativar fatores de transcrição envolvidos na expressão gênica mitocondrial, incluindo o NRF-1 (Handschin e Spiegelman, 2006).

A PGC-1 α também regula a expressão de diversos genes envolvidos na homeostase energética celular (Piugserver et al., 1998). Este coativador está presente em tecidos com alto metabolismo oxidativo e são capazes de aumentar tanto biogênese mitocondrial quanto oxidação de ácidos graxos em resposta a estímulos como o jejum e o exercício. A PGC-1 α desempenha funções metabólicas por se ligar a vários fatores de transcrição, levando ao aumento da expressão de genes envolvidos na função respiratória, causando aumento da capacidade enzimática para beta-oxidação de ácidos graxos, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa (Canto et al., 2010).

Através do declínio na biogênese mitocondrial e função durante o envelhecimento, diversas linhas de estudos apontam que a expressão da PGC-1 α está regulada para baixo no envelhecimento e pode estar relacionada a disfunção mitocondrial (Baker et al., 2006; Hepple et al., 2006). A disfunção da atividade mitocondrial supracitada provoca alterações e adaptações em tecidos de características anabólicas, dentre eles, pode-se citar o tecido adiposo marrom (BAT) (Bueno et al., 2015).

O tecido adiposo marrom está presente em todos as espécies mamíferas e em maiores quantidades nos primeiros anos de vida (Langin, 2010). O BAT tem como função principal a oxidação lipídica para a produção de calor, sendo assim, é especializado na termogênese adaptativa induzida pela exposição ao frio, dieta, exercício físico ou demais fatores externos (Himms-Hagen, 1990).

A oxidação de AGL e a produção de calor pelas células adiposas marrons surgem após a intensa atividade metabólica de mitocôndrias, que expressam a proteína desacopladora-1 (UCP-1) também conhecida como termogenina (Ricquier e Bouillaud, 2000). Ainda conforme os autores, a UCP-1 está localizada na membrana mitocondrial interna e permite a dissipação do gradiente eletroquímico de prótons, gerado pela cadeia respiratória mitocondrial. O desacoplamento entre o consumo de oxigênio e a síntese de ATP, promove dissipação de energia na forma de calor.

Os combustíveis para a termogênese são os AG derivados do próprio tecido, mas também da lipólise no tecido adiposo branco (WAT) (Langin, 2010). A capacidade e atividade do tecido no metabolismo é modificada por efeito das condições do meio ambiente, dessa forma, o BAT atrofia-se quando não é necessário e é ativado em situações de afronta por uma elevada e crônica demanda por calor, ou, por uma severa restrição nutricional energética ou protéica.

Bueno et al. (2015) mostraram que a quantidade de BAT vai diminuindo ao longo da vida nos animais, assim como nos seres humanos. Quanto a atividade da UCP-1, esta pode ser modificada por fatores externos. Dentre os principais modificadores da atividade de UCP-1 no BAT, cita-se condições ambientais, ingestão alimentar e exercícios físicos (Okita et al., 2012). Kindred et al. (2016) afirmaram que a quantidade de BAT diminui consideravelmente em homens idosos, quando comparados com homens jovens. Estes dados, aliados às informações do declínio mitocondrial e metabólico, sugerem que o envelhecimento proporciona uma série de alterações bioquímicas e fisiológicas paralelas a profundas alterações na composição corporal, como o acúmulo de gordura e diminuição da massa magra, podendo levar a obesidade (Piccoli et al., 2011).

O aumento do peso e o acúmulo da gordura corporal parecem derivar de um padrão programado geneticamente, de mudanças na dieta e no nível de atividade física, relacionados com a idade ou a uma interação entre esses fatores (Spirduso, 1995). Estudos mostram que o acúmulo, principalmente na região central do corpo, desempenha um papel importante para a resistência a insulina (IR) (Ohlson et al., 1985; Vague, 1999; Vazquez et al., 2007; Peppia et al., 2013).

A relação entre a obesidade e o desenvolvimento de IR tem sido bem documentada. Sabe-se que o acúmulo de gordura está fortemente correlacionado com a resistência à insulina (Tulloch-Reid et al., 2004). Esta correlação já está bem descrita e o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias é um dos mediadores do processo.

Alguns estudos mostraram de forma muito clara que a inflamação crônica e de baixo grau tem sido associada com o excesso de gordura corporal (Jung, 1997; Chan et al., 1994; Colditz et al., 1995; Dandona et al., 2004; Waki, 2007). As citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α e interleucina 1 beta (IL1 β) parecem desempenhar um papel central nestas conexões (Hotamisligil, 2006). Um dos principais substratos intermediários da via de sinalização do TNF α é a serinaquinase JNK (c-jun N-terminal quinase) (Shi et al., 2010).

Uma vez ativada, a JNK tem a função primária de induzir a associação dos produtos dos genes de resposta imediata c-Jun e c-Fos, levando à formação do fator de transcrição dimérico AP-1 (Shi et al., 2010). Entretanto, a atividade serinaquinase da JNK pode agir sobre outros substratos, inclusive os substratos tradicionais do receptor de insulina (substrato 1 e 2 do receptor de insulina) IRS-1 e IRS-2 (Deng et al., 2000). Uma vez fosforilados em serina pela JNK, a possibilidade de

serem fosforilados em tirosina pelo receptor de insulina fica comprometida, o que contribui para resistência à transdução do sinal da insulina através desta via.

Outra via pró-inflamatória que pode levar à fosforilação em serina de substratos do receptor de insulina é a via IKK/I κ B/NF- κ B (Senfleben et al., 2001). Esta via pode ser ativada pelo TNF α , mas também por outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β (Deng et al. 2000). A ativação de IKK (quinase indutora do *kappa* B) promove a dissociação do complexo I κ B/NF κ B (quinase inibidora do fator *kappa*/fator nuclear *kappa* B) mas também pode induzir a fosforilação em serina dos IRSs o que compromete a transdução do sinal da insulina através desta cascata. Dessa forma, é consenso que citocinas inflamatórias atuam sobre a via de sinalização de insulina, levando à resistência a esse hormônio.

Ao longo dos anos, os cientistas buscaram alternativas de tratamentos não farmacológicos para combater a resistência à insulina (e derivados) e pesquisas descobriram haver correlação positiva na combinação do exercício físico e essa condição clínica (Mondonet et al., 1980). Atualmente, sabe-se que o exercício melhora a sensibilidade a insulina, potencializando o efeito da insulina na fosforilação do substrato do receptor de insulina 2 (IRS-2) com consequente aumento da atividade da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-K) (Howlett et al., 2002).

Além disso, ocorre também uma maior fosforilação em serina da Akt, proteína fundamental para iniciar a translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a membrana citoplasmática (Wojtaszewski et al., 1999). Então, pode-se afirmar que o exercício físico diminui a resistência à insulina, consequentemente, há uma maior expressão de GLUT4 no tecido muscular (Fischer, 2014).

A prática regular de exercícios físicos gera adaptações metabólicas capazes de promover a estimulação da captação da glicose pelo músculo esquelético, por meio da translocação de GLUT4. Também, há o aumento da atividade de fibras oxidativas e diminuição das citocinas pró-inflamatórias (Pauli et al., 2009).

O exercício físico tem mostrado efeitos benéficos na atividade e biogênese mitocondrial (Chow, 2007; Little et al., 2011; Safdar et al., 2011). Em estudo realizado com ratos no qual foram submetidos à corrida em esteira, durante 5 dias por semana, por 8 semanas, houve uma melhora da função mitocondrial do músculo esquelético conforme evidenciado pelo aumento na atividade das enzimas mitocondriais (citrato sintase, β - hidroxiacil Coenzima A desidrogenase, citocromo c oxidase) e aumento das taxas de síntese de ATP mitocondrial (Chow et al., 2007). Análises de microarray revelaram que estas adaptações ao

treinamento foram acompanhadas por um acréscimo de transcrições gênicas correspondentes às proteínas mitocondriais. Estas mudanças induzidas pelo exercício ocorreram em conjunto com o aumento do DNA mitocondrial e a expressão de PGC- 1α (Lanza et al., 2010).

Sabe-se que o exercício provoca uma série de adaptações metabólicas, como as discutidas anteriormente, contudo, ainda não há um consenso na comunidade acadêmica sobre a maior eficiência de modalidades e intensidades de estímulos. Logo, faz-se necessária uma investigação de diferentes tipos de exercícios físicos e suas decorrentes adaptações.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos metabólicos de exercícios físicos de corrida em esteira e treinamento resistido de força muscular nos tecidos adiposos marrom e branco de ratos velhos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos dos protocolos de força e resistência sobre os parâmetros fisiológicos: peso corporal, índice de adiposidade total e nos tecidos: mesentérico, epididimal, retroperitoneal, perirenal e omental, peso do BAT;
- Avaliar os efeitos do treinamento de força e de resistência em moléculas reguladoras da atividade e biogênese mitocondrial (PGC-1 α , pAMPK, SIRT1) no BAT de ratos velhos;
- Identificar os efeitos dos treinamentos de força e resistência na cadeia respiratória, através dos complexos (I, II, III, IV) no BAT de ratos velhos;
- Avaliar os efeitos dos treinamentos de força e resistência sobre molécula marcadora de inflamação (NF κ B) e sensibilidade à insulina (pAKT) no WAT de ratos velhos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

O estudo foi conduzido utilizando 20 ratos machos Wistar (3 e 18 meses de idade – pesando $210\text{g}\pm 18\text{g}$, $418\text{g}\pm 11\text{g}$), provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram agrupados 5 a 5 em gaiolas com acesso livre a água e comida (Nuvilab CR1, Nuvital Nutrientes S/A, Brasil), em temperatura ambiente de 23°C graus e ciclo de claro e escuro de 12h sem restrições alimentares. Os animais foram divididos em: grupo controle jovem (CJ) (n=5), grupo controle velho (CV (n=5), grupo treinamento resistido de força muscular (TRFM) (n=5) e grupo de corrida em esteira (TCE) (n=5). O grupo controle jovem foi constituído pelos ratos de 3 meses e o grupo controle velho com os ratos de 18 meses de idade. Os ratos dos grupos força e resistência foram escolhidos aleatoriamente e ambientados a seus respectivos protocolos de treino. Os animais que não se adaptaram, não foram utilizados no estudo.

3.2 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO FÍSICO

3.2.1 Treinamento de corrida em esteira

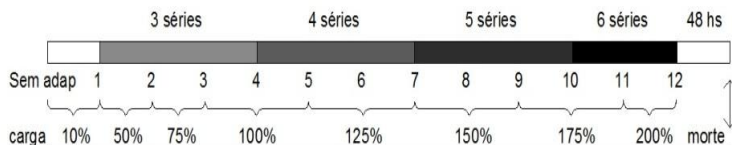
Para o treinamento de corrida em esteira (TCE), todos os animais foram ambientados em uma esteira ergométrica, com nove canais ($10\text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, sem inclinação, $10\text{ min}\cdot\text{dia}^{-1}$) durante uma semana, com o objetivo de reduzir o estresse no ambiente novo. Os ratos não receberam nenhum estímulo para correr. Após este período, os animais foram submetidos a um programa de treinamento de corrida com níveis progressivos de intensidade ($13\text{-}17\text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, sem inclinação) durante 3 a 4 dias por semana, durante 8 semanas. Cada sessão de treinamento teve duração de 60 minutos com intervalo de 48 h entre as sessões (Tabela 1).

Tabela 1. Treinamento de corrida em esteira

Semana	Dias/semana	Velocidade km/h	Grau (%)	Duração (min)
(adaptação)	5	0,6	0	5-10
1	3	0,8	0	30
2	4	0,8	0	60
3	3	1	10	60
4	4	1	10	60
5	3	1	10	60
6	4	1	10	60
7	3	1,2	10	60
8	4	1,2	10	60

3.2.2 Treinamento resistido de força muscular

Os animais submetidos ao treinamento resistido de força muscular (TRFM) realizaram a subida ao aparato com a carga inicial de 50% da massa corporal, aumentando progressivamente para 75%, 100%, 125%, 150% e 200%, 3 a 6 séries, 4-5 repetições com 2 minutos de intervalo, 4 dias por semana, durante 8 semanas. O protocolo está descrito conforme o esquema abaixo:



O aparato utilizado no experimento foi desenvolvido por Hornberger e Farrar (2004) e adaptado por Scheffer et al. (2012), representado pela figura a seguir.



Fig. 1: Aparato de treinamento resistido de força muscular

3.3 WESTERN BLOT

Após 48 horas da última sessão de exercício, todos os animais foram anestesiados através da administração intraperitoneal de Cetamina (80mg/kg) e Xilazina (12mg/kg) e posteriormente submetidos à eutanásia, os tecidos adiposos branco e marrom foram extraídos e imediatamente homogeneizados em tampão específico contendo 1% de Triton X 100, 100mM de Tris (pH 7,4), 100mM de pirofosfato de sódio, 100mM de fluoreto de sódio, 10mM de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 10mM de vanadato de sódio, 2mM de PMSF e 0,1 mg/mL de aprotinina a 4°C com Polytron MR 2100 (Kinematica, Suíça). O homogeneizado foi centrifugado a 11000 rpm por 30 minutos a 4°C. No sobrenadante determinou-se a concentração de proteínas totais (por teste colorimétrico), utilizando-se para isso o método de Lowry et al. (1951).

As proteínas foram ressuspensas e conservadas em tampão Laemmli, contendo 100 mmol/L de DTT (Laemmli, 1970) e posteriormente realizada a determinação do imunoblotting com anticorpos específicos. Para isso, alíquotas contendo 250µg de proteína por amostra foram aplicadas sobre gel de poli-acrilamida (SDS-PAGE). A eletroforese foi realizada em cuba Mini-PROTEAN® Tetra electrophoresis system (Bio-Rad, Hércules, Estados Unidos da América), com solução tampão para eletroforese. As proteínas separadas no SDS-PAGE, foram transferidas para a membrana de nitrocelulose, utilizando-se o equipamento de eletrotransferência Mini Trans-Blot®Electrophoretic Transfer Cell (Bio-Rad, Hércules, Estados Unidos da América). As membranas de nitrocelulose contendo as proteínas transferidas foram incubadas em solução bloqueadora por 2 horas, à temperatura ambiente, para diminuir

as ligações proteicas inespecíficas. A seguir, as membranas foram incubadas com anticorpos primários específicos: anti-PGC-1 α e anti-NF κ B p65 adquiridos da Cell Signalling Biotechnology (Beverly, Estados Unidos da América), anti-pAMPK, anti-SIRT1, anti-pAKT adquiridos da Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, EUA) sob agitação constante e overnight à 4°C. As membranas originais foram reblotadas com β -actina como proteína controle. A seguir, as membranas foram incubadas em solução com anticorpo secundário conjugado com peroxidase, durante 2 horas à temperatura ambiente. Após, as membranas foram incubadas por dois minutos com substrato enzimático e expostas ao filme de RX em cassete de revelação. A intensidade e área das bandas foi captada utilizando um scanner (HP G2710), quantificada através do programa Scion Image (Scion Corporation, Frederick, Estados Unidos da América).

3.4 PESO CORPORAL TOTAL, PESO DO BAT E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

Para determinar o peso corporal dos ratos, bem como o peso do BAT, foi utilizada uma balança analítica Bel Mark M254I (Bel, Itália) para comparação entre os grupos. Após a eutanásia dos animais, foi realizada a extração e pesagem do tecido adiposo epididimal, omental, retroperitoneal, perirrenal e mesentérico dos ratos, em balança analítica Bel Mark M254AI (Bel, Itália), para comparação entre os grupos. O peso da gordura corporal foi expresso como o percentual do peso corporal total do rato.

3.5 ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA

Atividade do complexo I: A atividade da NADH desidrogenase foi avaliada pelo método descrito por Cassina e Radi (1996) pela taxa de NADH-dependente da redução do ferricianeto a 420 nm.

Atividade do complexo II: O meio de incubação foi constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), succinato de sódio (16 mM) e DCIP (8 mM). Inicialmente pré-incubar com 40-80 g de proteínas do homogeneizado a 30°C por 20 minutos. Depois, foram adicionados ao meio 4 mM de azida sódica e 7 mM de rotenona e a reação iniciou com adição de 40 M de DCIP. As absorbâncias foram registradas por 5 minutos a 600 nm. A atividade do complexo II foi medida pela diminuição da absorbância causada pela redução do 2,6-dicloroindofenol (DCIP) (Fischer et al., 1985). Os resultados foram expressos em nmol. min⁻¹ . mg de proteína⁻¹

Atividade do complexo III: O meio de reação, constituído de fosfato de potássio (40 mM, pH 7,4), contendo succinato de sódio (16 mM), foi pré-incubado com 40-80 mg de proteínas do homogeneizado a 30°C por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados 4 mM de azida sódica e 7 mM de rotenona e a reação se iniciou pela adição de 0,6 mg/mL de citocromo c e as absorbâncias foram registradas por 5 minutos a 550 nm. A atividade do complexo III foi medida pelo aumento da 44 absorbância causado pela redução do citocromo c (Fischer et. al.,1985). Os resultados foram expressos em nmol. min⁻¹. mg de proteína⁻¹.

Atividade do Complexo IV: O meio de incubação foi composto por tampão fosfato de potássio (10 mM, pH 7,0), dodecil-maltisídeo (0,6 mM) e 10-20 mg de proteínas (homogeneizado). A reação foi iniciada com a adição de 0,7 mg de citocromo c reduzido. A atividade do complexo IV foi medida a 25°C por 10 minutos. A atividade da citocromo c oxidase foi medida pelo decréscimo na absorbância devido à oxidação de citocromo c previamente reduzido. As leituras foram feitas a 550 nm (Rustin et al., 1994). Os resultados foram expressos em nmol. min⁻¹ . mg de proteína⁻¹.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisados estatisticamente através da análise de variância não paramétrico (ANOVA), seguida por teste post hoc de Tukey. O estudo utilizou nível de significância de p menor que 5%. A análise estatística foi realizada por meio do software Graphpad Prism 1.0 para Microsoft Windows.

3.7 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O descarte dos animais foi realizado com acondicionamento dos mesmos em saco branco leitoso e armazenado em freezer -40 para posterior tratamento e deposição final em aterro sanitário, conforme procedimentos estabelecidos pela Vigilância Sanitária (RDC 306/2004). Todos os procedimentos foram realizados conforme as Diretrizes Brasileiras para o Cuidado e Uso de Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA (DOU 27/5/13, MCTI, p.7) e aprovados pelo Comitê de Ética local sob o protocolo 016/2013.

4 RESULTADOS

A figura 1 buscou avaliar os efeitos do exercício físico sobre a composição corporal de ratos velhos. Os ratos velhos apresentaram peso corporal significativamente maior que os ratos jovens, entretanto, os dois protocolos de exercício físico não promoveram alterações significativas em relação aos ratos velhos. (Fig. 1a). No entanto, a gordura corporal dos ratos exercitados mostrou-se significativamente reduzida, mesmo sem a diminuição do peso corporal.

O percentual de gordura nos tecidos epididimal (Fig. 1b), retroperitoneal (Fig. 1c), mesentérico (Fig. 1e) e omental (Fig. 1f) foi significativamente maior nos ratos do grupo controle velho quando comparado aos animais do grupo controle jovem. Também pode-se observar que ambos os protocolos de exercício reduziram significativamente o percentual de gordura em comparação com o grupo controle velho. Já no tecido perirenal (Fig. 1d), o percentual de gordura foi aumentado significativamente nos ratos velhos e apenas o TCE diminuiu os níveis de forma significativa.

Na avaliação do percentual de gordura total dos animais, denominado índice de adiposidade (Fig. 1g), os resultados mostram que há um aumento significativo no percentual de gordura no grupo controle velho e os exercícios físicos TCE e TRFM conseguiram promover redução significativa de tais parâmetros, sem distinção entre eles. Por fim, verificou-se o peso do BAT dos animais (Fig. 1h) e notou-se que os valores encontrados nos ratos do grupo controle velho são significativamente menores que nos ratos do grupo controle jovem e os grupos que praticaram exercício físico não apresentaram mudanças significativas em comparação com os grupos controle.

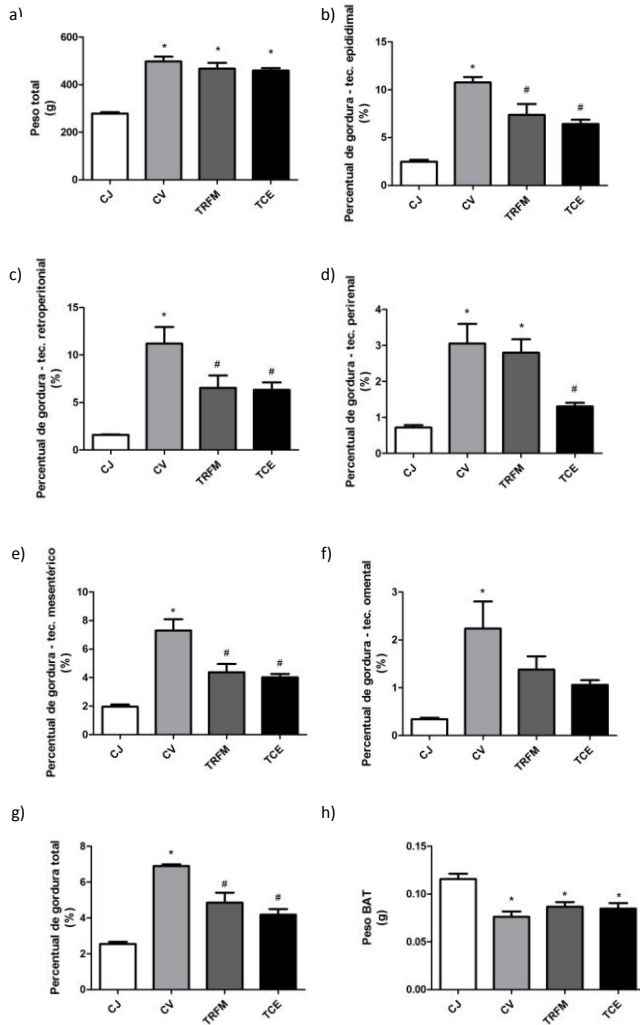


Fig. 1 Efeitos dos protocolos de exercício físico sobre parâmetros fisiológicos de ratos velhos. Peso corporal total (a). Percentual de gordura no tecido epididimal (b). Percentual de gordura no tecido retroperitoneal (c). Percentual de gordura no tecido perirrenal (d). Percentual de gordura no tecido mesentérico (e). Percentual de gordura no tecido omental (f). Percentual de gordura total (g). Peso do tecido adiposo marrom (h). TRFM = Treinamento resistido de força muscular; TCE = Treinamento de corrida em esteira. N = 5 ratos por grupo. O nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$ e a análise estatística comparativa

foi realizada por meio do teste One-way ANOVA não paramétrico e pós teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle jovem; # $p < 0,05$ em relação ao grupo controle velho.

A figura 2 representa a avaliação dos efeitos dos dois diferentes protocolos de exercício físico sobre moléculas reguladoras da atividade mitocondrial no tecido adiposo marrom de ratos velhos.

A partir dos resultados, nota-se que nas moléculas PGC-1 α (Fig. 2a), pAMPK (Fig. 2b) e SIRT1 (Fig. 2c) não houve diferença significativa entre os grupos controle de ratos jovens e velhos. Os dois protocolos de exercício físico promoveram aumentos significativos das moléculas reguladoras da atividade e biogênese mitocondrial em relação aos ratos velhos do grupo controle.

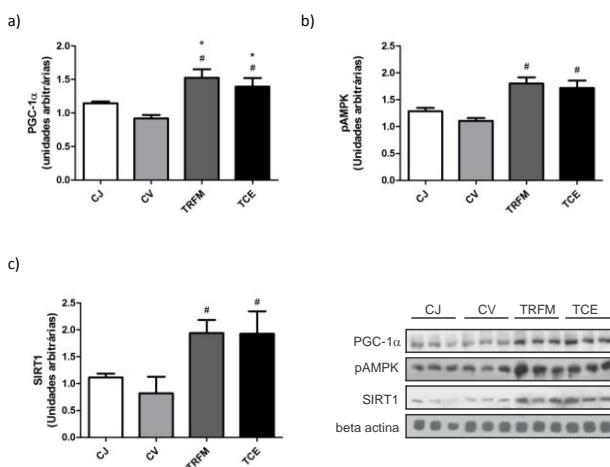


Fig. 2 Efeitos de diferentes protocolos de exercício físico sobre moléculas reguladoras da atividade mitocondrial no tecido adiposo marrom de ratos velhos. PGC1- α (a). pAMPK (b). SIRT1 (c). TRFM = Treinamento resistido de força muscular; TCE = Treinamento de corrida em esteira. N = 5 ratos por grupo. O nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$ e a análise estatística comparativa foi realizada por meio do teste One-way ANOVA não paramétrico e pós teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle jovem; # $p < 0,05$ em relação ao grupo controle velho.

A figura 3 representa a avaliação dos efeitos dos protocolos TRFM e TCE sobre a atividade da cadeia respiratória de ratos velhos. A atividade

dos complexos I e IV da cadeia respiratória de animais velhos (Fig. 3a e Fig. 3d respectivamente) foi significativamente menor em ratos do grupo controle velho em relação aos ratos do grupo controle jovem. Nota-se que os grupos que realizaram exercício físico apresentaram aumento significativo das atividades analisadas, sendo que o TCE mostrou aumento significativamente maior que o TRFM. Na análise da atividade dos complexos II (Fig. 3b) e III (Fig. 3c), os níveis reduziram significativamente no grupo controle velho na comparação com o grupo controle jovem. Os protocolos de exercício físico promoveram um aumento significativo da atividade respiratória, entretanto, sem diferença significativa entre eles.

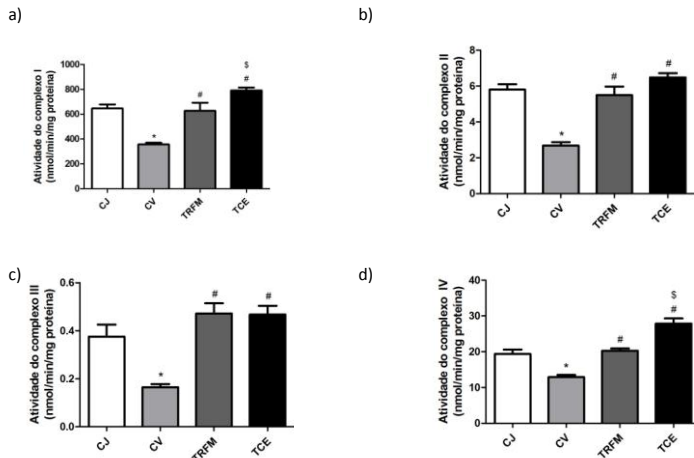


Fig. 3 Efeitos dos protocolos de exercício físico sobre a atividade da cadeia respiratória de ratos velhos. Atividade do complexo I (a). Atividade do complexo II (b). Atividade do complexo III (c). Atividade do complexo IV (d). TRFM = Treinamento resistido de força muscular; TCE = Treinamento de corrida em esteira. N = 5 ratos por grupo. O nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$ e a análise estatística comparativa foi realizada por meio do teste One-way ANOVA não paramétrico e pós teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle jovem; # $p < 0,05$ em relação ao grupo controle velho; \$ $p < 0,05$ em relação ao grupo TRFM.

A figura 4 buscou avaliar os efeitos dos dois protocolos de exercício físico sobre moléculas reguladoras de inflamação e transdução do sinal

insulínico no tecido adiposo branco de ratos velhos. Não houve diferença significativa nos níveis de pAKT entre os ratos dos grupos controle (Fig. 4a). Entretanto, os dois protocolos de exercício físico aumentaram significativamente os níveis da molécula analisada.

Os resultados da figura 4b mostram que não houveram alterações significativas na molécula reguladora de inflamação analisada em ratos velhos quando comparados aos ratos jovem. A mesma figura mostra que os protocolos de exercício não promoveram alterações significativas nos níveis de NFκB p65 nos ratos submetidos ao treinamento.

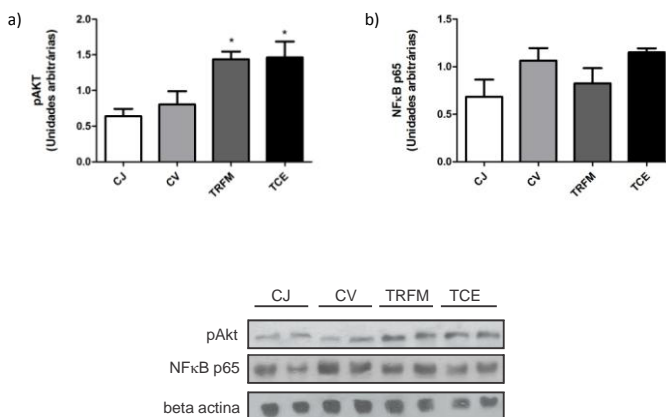


Fig. 4 *Efeitos dos dois protocolos de exercício físico sobre moléculas reguladoras de inflamação e transdução do sinal insulínico no tecido adiposo branco de ratos velhos.* pAKT (a). NFκB p65 (b). TRFM = Treinamento resistido de força muscular; TCE = Treinamento de corrida em esteira. N = 5 ratos por grupo. O nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$ e a análise estatística comparativa foi realizada por meio do teste One-way ANOVA não paramétrico e pós teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle jovem

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que conforme o envelhecimento, os ratos tendem a aumentar o peso corporal e que esse aumento ocorre principalmente na forma de massa adiposa. O aumento do peso corporal e dos índices de gordura são características comuns no processo de envelhecimento dos seres vivos (Matsudo et al. 2008). Este fato pode ser justificado por uma série de fatores, tais como: predisposição genética, influência do meio ambiente, níveis de atividade física, controle da ingestão alimentar, níveis de estresse, entre outros fatores socioculturais (Losonczy et al., 1995).

Na figura 1, pode-se observar que os ratos velhos, além de aumentar o peso corporal total, aumentaram significativamente o percentual de gordura nos tecidos epididimal, retroperitoneal, omental, perirenal e mesentérico. Os dados corroboram com os resultados obtidos por Huffman e Barzilai (2010), que analisaram o percentual de gordura de ratos ao longo da vida. Ainda na pesquisa de Huffman e Barzilai (2010), pode-se observar que o percentual de gordura nos tecidos supracitados aumentou de forma significativa com o passar do tempo. Os ratos de tal estudo, quando na idade semelhante ao da presente pesquisa, aumentaram a gordura intra-abdominal (59%) e nos tecidos epididimal (51%), perirenal (53%), omental (55%) e mesentérico (54%). Catalano et. al. (2010) investigaram alterações metabólicas promovidas pelo depósito de gordura mesentérica versus outros depósitos de gordura intra abdominais no desenvolvimento do diabetes mellitus tipo II em ratos novos e velhos.

Os ratos velhos analisados apresentaram maior peso corporal e maiores percentuais de gordura (total, epididimal, perirenal e visceral) em relação aos ratos jovens. Também, houve aumento significativo dos níveis de gordura no tecido mesentérico nos animais mais velhos, sem diferença significativa na comparação proposta pelo título do estudo (Catalano et. al. 2010). Catalano et. al. (2005), em outro estudo, observaram que ratos com altos níveis de gordura intra-abdominais estão mais suscetíveis ao desenvolvimento do DM2.

Conforme os resultados da figura 1, o exercício físico não promoveu diferenças significativas no peso corporal de ratos velhos submetidos a dois distintos protocolos. Porém, o exercício físico de TCE mostrou-se eficaz na diminuição do percentual de gordura nos tecidos: epididimal, retroperitoneal, mesentérico, perirenal, omental e no percentual de gordura total dos ratos. Já o protocolo TRFM, também promoveu redução significativa nos mesmos tecidos, exceto no tecido perirenal,

onde não foi encontrada diferença significativa neste tecido em comparação com os ratos velhos do grupo controle (Fig. 1d). Vale ressaltar que não foram encontradas diferenças significativas quando os dois grupos de exercícios foram comparados, portanto, os dois protocolos mostram-se eficazes na diminuição do percentual de gordura de ratos velhos.

Os resultados encontrados apontam que o exercício físico é fundamental para a redução do percentual de gordura no envelhecimento, independente do tipo de treinamento escolhido. Em relação ao peso do BAT, os dois protocolos de exercício físico não obtiveram diferenças significativas quando comparados aos grupos controle de ratos velhos. Em adição, houve redução significativa do peso do BAT dos dois protocolos quando comparados com o grupo controle de ratos jovens.

O peso do tecido adiposo marrom apresentou diminuição significativa nos ratos velhos do grupo controle em relação aos ratos jovens. O exercício físico não foi capaz de promover alterações significativas neste tecido (Fig. 1h). Na literatura, ainda não existem muitos estudos contundentes que abordem os efeitos do exercício físico sobre o peso do BAT em ratos de meia idade ou velhos. Wu et al. (2014) avaliou a regulação da capacidade termogênica do tecido adiposo branco e marrom em ratos submetidos a dietas hiperlipídicas e treinamento de endurance. No estudo, após 8 semanas de treinamento, os ratos que praticaram exercício físico apresentaram maior área de tecido adiposo marrom que ratos sedentários. Portanto, o peso do BAT diminuiu de forma significativa em ratos velhos e os protocolos de exercício físico pareceram não reverter a perda deste tecido, sendo necessárias maiores investigações sobre o tema.

A relação entre o exercício físico e a composição corporal vem sendo estudada há muito tempo e os efeitos tem-se demonstrado benéficos. Garthwaite et al. (1986) analisaram o impacto do exercício físico e da restrição alimentar no envelhecimento. Foi constatado que o exercício físico foi mais eficaz que a restrição alimentar na manutenção e menor diminuição de massa magra em ratos que praticaram natação. No estudo, verificou-se uma significativa redução do percentual de gordura e no peso corporal dos ratos, diferentemente do presente estudo.

Huang et al. (2016) buscou verificar os efeitos de treinamento de natação em moléculas reguladoras da atividade e biogênese mitocondrial. No estudo, os animais possuíam peso corporal similar aos animais do presente estudo nas idades analisadas (3 e 18 meses). Contudo, os animais exercitados diminuíram significativamente o peso

corporal após um período de 12 semanas. Ressalta-se que os animais não apresentavam diferenças significativas no peso corporal no decorrer de 8 semanas, assim como o presente trabalho.

Davis et al. (2013) realizaram um experimento com o intuito de elucidar os efeitos do envelhecimento e exercício físico sobre a gordura intra-abdominal e regulação da pressão sanguínea. Após 10 a 12 semanas de exercícios de endurance, os ratos que praticavam exercícios físicos apresentaram peso significativamente menor que ratos sedentários. No estudo, a intensidade utilizada foi de 70 a 80% do VO_2 máx e as sessões de treino eram realizadas cinco vezes por semana com duração de 60 minutos cada.

Em seres humanos, exercícios físicos de alta intensidade (>80% VO_2 máx) tem demonstrado redução de peso corporal significativa a partir de 6 semanas de treinamento (Little et al., 2011; Gibala et al., 2011; Gibala et al., 2012). A partir disso, destaca-se a importância do exercício físico para a redução do percentual de gordura e melhoras na saúde no processo de envelhecimento. Mesmo sem alterações no peso, a composição corporal dos animais mostrou que existem diferentes maneiras para a redução da massa adiposa na velhice e que tal redução acarreta na diminuição no risco de diversos tipos de complicações, como a resistência à insulina, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras.

Na figura 2, avaliou-se o efeito do exercício físico sobre moléculas reguladoras da atividade e biogênese mitocondrial. Conforme discutido na introdução, sabe-se que o envelhecimento provoca a redução e o exercício físico o aumento da atividade e biogênese mitocondrial. Os ratos velhos do presente estudo não diminuíram as moléculas analisadas em comparação com os ratos jovens, tal fato pode ser justificado pois as alterações ocorreram a níveis bioquímicos e provavelmente não conseguiram atingir níveis moleculares em função do declínio gerado pelo envelhecimento. Entretanto, os protocolos de exercício físico de TCE e TRFM promoveram o aumento significativo da atividade das moléculas PGC-1 α (Fig. 2a), pAMPK (Fig. 2b) e SIRT1 (fig. 2c), mostrando que houve uma maior atividade destas moléculas, sugerindo um possível aumento da atividade e biogênese mitocondrial no tecido adiposo marrom.

Os resultados corroboram com o estudo de Wu et al. (2015) que mostrou um aumento da atividade de PGC-1 α no BAT de ratos praticantes de exercício de endurance. Segundo Fenzl e Kiefer (2014), o exercício físico promove o aumento da termogênese no tecido adiposo marrom e um dos processos chave é realizado por meio da elevada atividade de PGC-1 α .

Um elegante estudo desenvolvido por Norheim et al. (2014) buscou avaliar os efeitos do exercício físico agudo e crônico sobre parâmetros metabólicos nos tecidos adiposos branco e marrom em seres humanos. Os autores constataram que houve um aumento da atividade de PGC-1 α e Irisina de forma aguda e também após 12 semanas de treinamento em indivíduos pré-diabéticos ou destreinados.

Um belo estudo de De Matteis (2013) classificou o exercício físico como um "novo estímulo" para a atividade do BAT. No estudo, ratos foram submetidos a 6 semanas de treinamento de corrida em intensidade de 60% e a atividade mitocondrial, regulada principalmente pela PGC1- α aumentou de forma significativa ao final do experimento. Em humanos, a intensidade parece não ser um fator determinante para o aumento da atividade mitocondrial.

Bartlet et al. (2012) mostraram que a atividade de PGC-1 α aumentou de forma significativa em indivíduos que praticaram exercícios intermitentes de alta intensidade (HIIT) e exercícios de resistência muscular localizada. Ambos os protocolos utilizaram a corrida como método de treinamento e o tecido utilizado foi o músculo esquelético. Os autores afirmam, na discussão, que a alta atividade mitocondrial tem sido observada em diversos tecidos, incluindo os adiposos.

O exercício de resistência promove a biogênese mitocondrial através da ativação de PGC-1 α por duas maneiras distintas: um rápido aumento na atividade PGC- 1 α seguido por um aumento mais crônico na expressão de PGC- 1 α . A fase rápida inicial de adaptação foi abordada pela primeira vez a partir de três principais observações feitas por Wright et al. (2007). Primeiro, a transcrição de genes e expressão de determinadas proteínas mitocondriais aumentou semelhantemente ou mais rápido comparando com a expressão PGC- 1 α em resposta ao exercício. Segundo, NRF1 e NRF2 foram ligados aos seus respectivos promotores antes de qualquer aumento na expressão de PGC-1 α . Terceiro, a maioria da PGC-1 α é encontrada dentro do citoplasma no músculo em repouso, mas transloca para o núcleo em resposta ao exercício. Os autores propõem que antes de quaisquer mudanças na expressão PGC-1 α , o exercício inicia rapidamente o processo da biogênese mitocondrial pela ativação de PGC- 1 α (Wright et al., 2007).

Suwa et al. (2008) sugerem que o exercício de resistência aumenta a expressão das proteínas SIRT1 e PGC-1 α melhorando a biogênese mitocondrial do músculo. A ativação da biogênese mitocondrial pode minimizar os processos musculares associados ao envelhecimento, possivelmente através de moléculas, tais como AMPK, SIRT1 e PGC-1 α (Kang, et al., 2013).

O exercício físico aumenta a AMPK e SIRT1, aumentando também a atividade de PGC-1 α , tanto por fosforilação direta (papel da AMPK), quanto por sua desacetilação (papel da SIRT1). Dessa forma, o exercício físico pode ativar biogênese mitocondrial através da desacetilação da PGC-1 α mediada pela SIRT1 (Fulco et al., 2003; Lavu et al., 2008). Nosso grupo já mostrou que o exercício físico pode promover o aumento de pAMPK no quadríceps de ratos velhos, de maneira proporcional a intensidade. Na pesquisa, observou-se que as diferenças mais significativas foram encontradas em exercícios de alta intensidade (Oliveira et al., 2014).

A figura 3 mostrou que a atividade da cadeia respiratória diminui de acordo com o envelhecimento, pois observou-se que no complexo I (Fig. 3a), complexo II (Fig. 3b), complexo III (Fig. 3c) e complexo IV (Fig. 3d) os níveis são significativamente menores nos ratos velhos do grupo controle em relação ao grupo controle de ratos jovens.

O envelhecimento tem sido associado a menores taxas de síntese de proteínas mitocondriais, distúrbios nas atividades de enzimas mitocondriais, além da menor capacidade oxidativa para a produção de energia (Short et al., 2005; Iqbal et al., 2013). Há relatos que comprovam que ratos velhos possuem níveis proteicos de citocromo-c significativamente menores que ratos jovens (Haak et al., 2009; Kang et al., 2009).

Os resultados do presente estudo mostram que o exercício físico promoveu aumento significativo da atividade da cadeia respiratória em todos os complexos quando comparados ao grupo controle de ratos velhos. Nos complexos I (Fig. 3a) e IV (Fig. 3d), os protocolos de exercício TCE e TRFM aumentaram a atividade respiratória de forma significativa, sendo que o TCE mostrou-se mais eficaz. Nos complexos II (Fig. 3b) e III (Fig. 3c), ambos os tipos de exercício físico promoveram aumentos significativos na atividade da cadeia respiratória em comparação com ratos velhos, entretanto, sem diferença significativa entre eles.

Seene e Kaasik (2012) defendem que o exercício aeróbio promove, de forma eficiente, alterações nos fatores de risco de doença cardiovascular decorrente das moléculas analisadas em nossa pesquisa. Os autores afirmam ainda, que este tipo de exercício é o mais potente indutor fisiológico da biogênese mitocondrial em diversos tecidos, como o muscular e o adiposo. Estes dados corroboram com as informações obtidas no presente estudo, onde o TCE pareceu ser mais eficiente que o TRFM em dois dos quatro complexos da cadeia respiratória analisados.

Dessa forma, Samjoo et al. (2013) mostraram em estudos recentes, que o exercício físico aeróbio de baixa a moderada intensidade promove melhoras no tecido adiposo em obesos e adolescentes sedentários, respectivamente. O treinamento resistido também é considerado um eficiente indutor do aumento da atividade da cadeia respiratória. Estudos como o de Woods et al. (2014) mostram que indivíduos idosos praticantes de treinamento de força possuem maiores níveis de atividade da cadeia respiratória do que idosos sedentários. Os mesmos autores ressaltam ainda, que este tipo de treinamento diminui o efeito da sarcopenia e tem-se demonstrado ser mais eficaz que exercícios de baixa intensidade, diferentemente dos dados encontrados na presente pesquisa.

Um estudo de nosso laboratório (Tromm, 2014) mostrou que o exercício físico promove diferentes adaptações na atividade da cadeia respiratória de forma dependente da intensidade, sendo que os protocolos mais intensos parecem ser mais eficazes. Para corroborar com estes achados, uma meta-análise buscou comparar os efeitos dos treinamentos intervalados de alta intensidade e treinamentos contínuos de baixa intensidade sobre marcadores de dano cardiovascular e moléculas envolvidas na cadeia transportadora de elétrons. Os exercícios mais intensos mostraram-se mais eficazes que os de baixa intensidade em todos os parâmetros analisados (Ramos et al., 2015). Logo, faz-se necessário a realização de mais estudos que possam elucidar o papel de cada tipo de exercício e intensidade sobre os parâmetros da atividade da cadeia respiratória e mitocondrial.

A figura 4 mostra os efeitos de dois protocolos de exercício físico sobre a molécula crucial envolvida na transdução do sinal insulínico (pAKT) e o marcador inflamatório (NFκB p65) no tecido adiposo branco de ratos velhos. Os resultados mostraram que os dois protocolos de exercício físico apresentaram aumento significativo de pAKT quando comparados com o grupo controle de ratos velhos, sem diferença significativa entre os protocolos, sugerindo uma possível melhora na transdução do sinal insulínico.

Nosso grupo tem demonstrado que o exercício físico promove um aumento da sensibilidade à insulina, seja de forma aguda ou crônica mesmo sem alteração no peso corporal (Ropelle et al., 2006; Oliveira et al., 2011; Marinho et al., 2012), corroborando com o presente estudo. Em um de nossos primeiros estudos, Luciano et al. (2002) verificaram que a sinalização da insulina no músculo esquelético e no tecido adiposo de camundongos magros aumentaram depois de um período de seis semanas de natação, com sobrecarga adicional de 5%, o que demonstrou que o exercício é eficaz na melhora a resposta à insulina em

tecidos periféricos, como músculo esquelético e adiposo de animais saudáveis.

Na figura 4b, os resultados mostraram que os exercícios físicos não foram capazes de reverter os níveis proteicos de NFκB p65 em comparação com os ratos velhos. A partir deste resultado, sugere-se que a sensibilidade à insulina foi aumentada por outras vias, que não foram analisadas no experimento. Uma hipótese para a não diminuição dos marcadores inflamatórios é de que, com o envelhecimento, há um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias provenientes do acúmulo de tecido adiposo em macrófagos (aumentados em função da idade) e os exercícios utilizados não foram capazes de reduzir significativamente estas citocinas (Freitas, 2016).

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo mostram que os ratos submetidos aos protocolos de corrida em esteira e de força muscular apresentaram diminuição significativa do percentual de gordura, tanto nos tecidos analisados separadamente, quanto no percentual de gordura total, em relação aos ratos velhos do grupo controle. Também, pode-se observar que ambos os protocolos de exercício físico promovem benefícios similares em moléculas que sinalizam atividade e biogênese mitocondrial.

A atividade da cadeia respiratória no tecido adiposo marrom foi significativamente maior nos ratos que praticaram TCE e TRFM em relação aos ratos velhos do grupo controle. Ambos os protocolos aumentaram significativamente a molécula crucial na transdução do sinal insulínico (pAKT), sugerindo uma possível menor sensibilidade à insulina no tecido adiposo branco de ratos velhos, que pareceu ser independente dos níveis proteicos de NF κ B.

Por fim, destaca-se que os dois protocolos de exercício físico conseguiram promover excelentes resultados sobre a massa adiposa no envelhecimento. O estudo foi pioneiro na comparação dos dois métodos e indica que, mesmo com estímulos completamente diferentes, o exercício físico altera de forma significativa os parâmetros metabólicos e de composição corporal de ratos durante o envelhecimento.

REFERÊNCIAS

Andrisse S, Koehler RM, Chen JE, Patel GD, Vallurupalli VR, Ratliff BA, Fisher JS. Role of GLUT1 in regulation of reactive oxygen species. *Redox Biol.* 2014; 2: 764-771.

Araújo APS, Bertolini SMMG, Junior JM. Alterações morfofisiológicas decorrentes do processo de envelhecimento do sistema musculoesquelético e suas consequências para o organismo humano. *Perspectivas.* 2014; 4(12): 30-40.

Baker DJ, Betik AC, Krause DJ, McConkey MJ, Hepple RT. Exercise training in late middle aged male F344BN rats improves skeletal muscle aerobic function. *Exp Physiol.* 2008; 93: 863–871.

Bartlett JD, Close GL, MacLaren DP, Gregson W, Drust B, Morton JP. High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. *J Sports Sci.* 2011; 29: 547–553.

Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, Moore IK, Perret P, Pypaert M, Young LH, Semenkovich CF, Shulman GI. Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J of Phys.* 2001; 281: 1340-1346.

Bolster DR; Crozier SJ; Kimball SR; Jefferson LS. AMP-activated protein kinase suppresses protein synthesis in rat skeletal muscle through down-regulated mammalian target of rapamycin (mTOR) signalling. *J of Biol Chems.* 2002; 277: 23977-23980.

Bueno M, Lai YC, Romero Y, Brands J, Croix CMS, Kamga C, Duncan SR. PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis. *The J of Clin Inv.* 2015; 125(2): 521-538.

Camarano AC, Kanso S. As instituições de longa permanência de idosos no Brasil. *Rev Bras Estud Popul.* 2010; 27(1): 8-17.

Cantó C, Jiang LQ, Deshmukh AS, Mataka C, Coste A, Lagouge M, Auwerx J. Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle. *Cell Met.* 2010; 11(3): 213-219.

Capel F, Buffiere C, Patureau Mirand P, Mosoni L. Differential variation of mitochondrial H₂O₂ release during aging in oxidative and glycolytic muscles in rats. *Mech. Ageing Dev.* 2004; 125: 367–373.

Catalano KJ, Stefanovski D, Bergman RN. Critical role of the mesenteric depot versus other intra-abdominal adipose depots in the development of insulin resistance in young rats. *Diabetes.* 2010; 59(6): 1416-1423.

Chabi B, Ljubicic V, Menzies KJ, Huang JH, Saleem A, Hood DA. Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. *Aging Cell.* 2008; 7(1): 2–12.

Chaimowics F. Os Idosos Brasileiros no Século XXI: demografia, saúde e sociedade [dissertação de mestrado]. Mestrado em Saúde Coletiva. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2008.

Chan JM, Rimm B, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Obesity, fat distribution and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care.* 1994; 17: 961-969.

Chow LS, Greenlund LJ, Asmann YW, Short KR, McCrady SK, Levine JA, Nair KS. Impact of endurance training on murine spontaneous activity, muscle mitochondrial DNA abundance, gene transcripts, and function. *J App Phys.* 2007; 102(3): 1078-1089.

Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med.* 1995; 122: 481-486.

Cottrell DM, Turnbull C. Mitochondria and ageing: current opinion in clinical nutrition. *Metab.* 2000; 1: 473–478.

Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Tren Immun.* 2004; 25: 4-7.

Davis RT, Stabley JN, Dominguez JM, Ramsey MW, McCullough DJ, Lesniewski LA, Behnke BJ. Differential effects of aging and exercise on intra-abdominal adipose arteriolar function and blood flow regulation. *J App Phys.* 2013; 114(6): 808-815.

De Matteis R, Lucertini F, Guescini M, Polidori E, Zeppa S, Stocchi V, Cuppini R. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. *Nutri, Metabol Cardr Dis.* 2014; 23(6): 582-590.

Deng L, Wang C, Spencer E, Yang L, Braun A, You J, Slaughter C, Pickart C, Chen ZJ. Activation of the IkappaB kinase complex by TRAF6 requires a dimeric ubiquitin-conjugating enzyme complex and a unique polyubiquitin chain. *Cell.* 2000; 103: 351-361.

Drew B, Phaneuf S, Dirks A, Selman C, Gredilla R, Lezza A, Barja G, Leeuwenburgh C. Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2003; 284: 474-480.

Fenzl A, Kiefer FW. Brown adipose tissue and thermogenesis. *Horm Mol Biol Clin Inv.* 2014; 19(1): 25-37.

Fleg E, O'Connor F, Gerstenbliff G, Becker LC, Clulow J, Schulman SP, Lakatta, EG. Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women. *J Appl Physiol.* 1995; 78: 890-900.

Forbes GB, Reina JC: Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. *Metabol.* 1970; 19: 653-63.

Freitas, G. B. Efeitos de programas de exercício físico no estresse oxidativo e no envelhecimento [dissertação de mestrado]. Mestrado em Gerontologia, Atividade Física e Saúde no Idoso. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro; 2016.

Fulco M, Schiltz RL, Iezzi S, King MT, Zhao P, Kashiwaya Y, Hoffman E, Veech RL, Sartorelli V. Sir2 regulates skeletal muscle differentiation as a potential sensor of the redox state. *Mol Cell.* 2003; 12: 51-62.

Garthwaite SM, Cheng H, Bryan JE, Craig BW, Holloszy JO. Ageing, exercise and food restriction: effects on body composition. *Mech of Ageing Devel.* 1986; 36(2): 187-196.

Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The J Phys.* 2012; 590(5): 1077-1084.

- Haigis MC, Guarente LP. Sirtuins emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Gen Devel.* 2006; 20: 2913–2926.
- Handschin C, Spiegelman, BM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis. *Embo J.* 2006; 15: 313-328.
- Hayashi T, Hirshman MF; Kurth EJ; Winder WW; Goodyear LJ . Evidence for 5_ AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes.* 1998; 47: 1369–1373.
- Himms-Hagen, JN. Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies. *The Fas Journal.* 1990; 4(11): 2890-2898.
- Hornberger TA Jr, Farrar RP. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can J Appl Physiol.* 2004; 29(1): 16-31.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444: 860-867.
- Howlett KF, Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WG, Dow M, White MF, Goodyear LJ. Insulin signaling after exercise in insulin receptor substrate-2-deficient mice. *Diabetes.* 2002; 51: 479-483.
- Huffman DM, Barzilay N. Contribution of adipose tissue to health span and longevity. In *Body Comp and Aging.* 2010; 37: 1-19.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Tábua completa da mortalidade. Brasília, 2015. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Tabuas_Completas_de_Mortalidade/Tabuas_Completas_de_Mortalidade_2015/pdf/ambos_pdf.pdf.
- Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Muscle Nerve.* 2013; 48(6): 963-970.
- Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged. *J Appl Physiol.* 2000; 89(1): 81-88.

Jung RT. Obesity as a disease. *Brit Med Bull.* 1997; 53: 307-321.

Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Exp Geront.* 2013; 48(11): 1343-1350.

Kilsztajn S, Rossbach AC, Câmara MB, Carmo MSN. Serviços de saúde, gastos e envelhecimento da população brasileira. *Rev Bras Est Pop.* 2013; 20(1): 93-108.

Kindred JH, Tuulari JJ, Simon S, Luckasen GJ, Bell C, Rudroff T. Brown adipose and central nervous system glucose uptake is lower during cold exposure in older compared to young men: a preliminary PET study. *Ag Clin and Exp Res.* 2016; 18: 1-12.

Laemmli, UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227: 680-685.

Langin D. Recruitment of brown fat and conversion of white into brown adipocytes: strategies to fight the metabolic complications of obesity? *Cell Bio.* 2010; 1801(3): 372-376.

Lanza IR, Sreekumaran K. Regulation of skeletal muscle mitochondrial function: genes to proteins. *Acta Phys.* 2010; 199(4): 529-547.

Lavu S, Boss O, Elliott PJ, Lambert PD. Sirtuins--novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nature Rev Drug Disc.* 2008; 7: 841-853.

Lesnefsky EJ, Hoppel CL. Oxidative phosphorylation and aging. *Ageing Res Rev.* 2006; 5(1): 402-433.

Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Phys.* 2011; 300(6): 1303-1310.

Losonczy KG, Harris TB, Cornoni-Huntley J, Simonsick EM, Wallace RB, Cook NR, Blazer DG. Does weight loss from middle age to old age explain the inverse weight mortality relation in old age?. *Am J of Epidem.* 1995; 141(4): 312-321.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193(1): 265-275.

Mansouri A, Muller FL, Liu Y, Fauljner J, Hamilton M, Richardson A, Huang TT, Epstein CJ; van Remmen H. Alterations in mitochondrial function, hydrogen peroxide release and oxidative damage in mouse hind-limb skeletal muscle during aging. *Mech of Age Devel.* 2006; 127: 298–306.

Marinho R, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT, Da Silva ASR, Bertoli FC, Pauli JR. Endurance exercise training increases APPL1 expression and improves insulin signaling in the hepatic tissue of diet-induced obese mice, independently of weight loss. *J Cell Phys.* 2012; 227(7): 2917-2926.

Matsudo SM, Matsudo VKR, Marin RV. Atividade física e envelhecimento saudável. *Diagn. tratamento.* 2008; 13(3): 142-147.

Matsudo SM, Matsudo VKR, Neto TLB. Impacto do envelhecimento nas variáveis antropométricas, neuromotoras e metabólicas da aptidão física. *Rev Bras Ciência e Mov.* 2000; 8(4): 21-32.

Merrill GF, Kurth J, Hardie DG, Winder WW. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *Am J Physiol.* 1997; 273: 1107-1112.

Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J.* 2007; 404: 1-13.

Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barret JC, Horikawa EC. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Cell Biol.* 2005; 16: 4623–4635.

Mondon CE, Dolkas CB, Reaven GM. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise-trained rats at rest. *Am J Physiol.* 1980; 239: 169-177.

Muller FL, Song W, Liu Y, Chaudhuri A, Pieke-Dahl S, Strong R, et al. Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy. *Free Radic Biol Med.* 2006; 40(11): 1993-2004.

Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, Drevon CA. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *Febs J*. 2014; 281(3): 739-749.

Ohlson, LO, Larsson B, Svärdsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L, Tibblin G. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus: 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes*. 1985; 34(10): 1055-1058.

Okita N, Hayashida Y, Kojima Y, Fukushima M, Yuguchi K, Mikami K, Toda T. Differential responses of white adipose tissue and brown adipose tissue to caloric restriction in rats. *Mech of Ag Devel*. 2012; 133(5): 255-266.

Oliveira NRC. Os efeitos do exercício físico sobre parâmetros metabólicos e moleculares em músculo quadríceps de ratos adultos velhos ocorrem de maneira dependente da intensidade [tese de doutorado]. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2014.

Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa J, Ijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. SIRT1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene*. 2006; 25: 176–185.

Pauli JR, Cintra DE, Souza C, Ropelle ER. New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle. *Arq Bras Endoc Metabol*. 2009; 53: 399-408.

Peppia M, Koliaki C, Hadjidakis DI, Garoflos E, Papaefstathiou A, Katsilambros N, Dimitriadis GD. Regional fat distribution and cardiometabolic risk in healthy postmenopausal women. *Eur J of Interl Med*. 2013; 24(8): 824-831.

Piccoli T, Figueiredo LL, Patrizzi LJ. Sarcopenia e envelhecimento. *Fisioterapia em Mov*. 2011; 24(3): 109-118.

Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*. 1998; 92: 829–839.

Ramos JS, Dalleck LC, Tjonna AE, Beetham KS, Coombes JS. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2015; 45(5): 679-692.

Ricquier D, Bouillaud F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J.* 2000; 345: 161-179.

Rodgers JT, Lerin C, Haas W. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature.* 2005; 434: 113-118.

Ropelle ER, Pauli JR, Prada PO, De Souza CT, Picardi PK, Cintra DE. Reversal of diet-induced insulin resistance with single bout of exercise in the rat the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. *J Physiol.* 2007; 577: 997-1007.

Safdar A, Bourgeois JM, Ogborn DI, Little JP, Hettinga BP, Akhtar M, Prolla TA. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108(10): 4135-4140.

Sakamoto K, Arnolds DE, Ekberg I, Thorell A, Goodyear LJ. Exercise regulates Akt and glycogen synthase kinase-3 activities in human skeletal muscle. *Bioch Biophys Res Comm.* 2004; 319(2): 419-25.

Samjoo IA, Safdar A, Hamadeh MJ, Raha S, Tarnopolsky MA. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutri Diab.* 2013; 3(9): 88-100.

Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, Latini A, Pinho RA. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012; 37(6):1239-1246.

Seene T, Kaasik P. Role of exercise therapy in prevention of decline in aging muscle function: glucocorticoid myopathy and unloading. *J Aging Res.* 2012. 34: 134-140.

Senfleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krähn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M. Activation by IKK α of a second,

evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. *Science*. 2001; 293: 1495-1499.

Shahbazian MD, Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation. *Ann Rev Biochem*. 2004; 76: 75-100.

Shi CS, Kehrl JH. TRAF6 and A20 regulate lysine 63-linked ubiquitination of Beclin-1 to control TLR4-induced autophagy. *Sci Signal*. 2010; 3: 42-52.

Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Coenen-Schimke JM, Rys P, Nair KS. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance exercise training. *J App Phys*. 2005; 99(1): 95-102.

Spiriduso W. *Physical Dimensions of Aging*. 1st ed. Champaign: Human Kinetics, 1995.

Suwa M, Nakano H, Kumagai S. Effects of chronic AICAR treatment on fibre composition, enzyme activity, UCP3, and PGC-1 in rat muscles. *J of App Phys*. 2003; 95: 960-968.

Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism*. 2008; 57(7): 986-998.

Tromm CB. *Resposta aguda e adaptativa do exercício físico sobre parâmetros de estresse oxidativo e do metabolismo do cálcio em músculo esquelético de ratos velhos [dissertação de mestrado]*. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2014.

Tulloch-Reid MK, Hanson RL, Sebring NG, Reynolds JC, Premkumar A, Genovese DJ, Sumner AE. Both subcutaneous and visceral adipose tissue correlate highly with insulin resistance in African Americans. *Obes Res*. 2004; 12(8): 1352-1359.

Tzankoff SP, Norris AH: Effect of muscle mass decrease on age-related BMR changes. *J Appl Phys*. 1977; 43: 1001-1006.

Vazquez I, Fernández-Veledo S, de Alvaro C, Rondinone CM, Valverde AM, Lorenzo M. Protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient myocytes show increased insulin sensitivity and protection against tumor necrosis factor- α -induced insulin resistance. *Diabetes*. 2007; 56(2): 404-413.

Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2007; 2: 31-56.

Winder WW, Holmes BF, Rubink DS, Jensen EB, Chen M, Hollosky JO. Activation of amp-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *J Appl Phys*. 2000; 88: 2219-2226.

Wojtaszewski JF, Higaki Y, Hirshman MF, Michael MD, Dufresne SD, Kahn CR, Goodyear LJ. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *J Clin Invest*. 1999; 104: 1257-1264.

Woods JA, Wilund KR, Martin SA, Kistler BM. Exercise, inflammation and aging. *Aging Dis*. 2014; 3(1): 130-140.

World Health Association (WHO). *The World Health Statistics*, 2015. New York, 2015. p81-84.

Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, Geiger PC, Jones TE, Holloszy JO. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1 α expression. *J Biol Chem*. 2007; 282(1): 194-199.

Wu MV, Bikopoulos G, Hung S, Ceddia RB. Thermogenic capacity is antagonistically regulated in classical brown and white subcutaneous fat depots by high fat diet and endurance training in rats: Impact on whole-body composition. *J Biol Chem*. 2014; 289(49): 34129-34140.

Yamamoto K, Chappell MC. In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats: Part 2. Hypertension. 1992; 19: 692-696.