

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE FARMÁCIA**

**AMANDA STEPHANE CRUZ DOS PASSOS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE  
A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA INDUZIDA POR  
CONSUMO CRÔNICO DE SACAROSE**

**SÃO LUÍS-MA  
2019**

**AMANDA STEPHANE CRUZ DOS PASSOS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE  
A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA INDUZIDA POR  
CONSUMO CRÔNICO DE SACAROSE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Farmácia como pré-requisito para obtenção  
de título de Bacharel em Farmácia pela  
Universidade Federal do Maranhão.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Araújo Serra  
Pinto

**SÃO LUÍS-MA  
2019**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Cruz dos Passos, Amanda Stephane.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE A  
DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA INDUZIDA POR  
CONSUMO CRÔNICO DE SACAROSE / Amanda Stephane Cruz dos  
Passos. - 2019.

49 f.

Orientador(a): Bruno Araújo Serra Pinto.

Monografia (Graduação) - Curso de Farmácia,  
Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do  
Maranhão, 2019.

1. DHGNA. 2. Dieta rica em sacarose. 3. Síndrome  
metabólica. 4. Treinamento resistido. I. Araújo Serra  
Pinto, Bruno. II. Título.

**AMANDA STEPHANE CRUZ DOS PASSOS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE  
A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA INDUZIDA POR  
CONSUMO CRÔNICO DE SACAROSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) –Campus Bacanga, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

---

Profa. Dra. Karla Frida Torres Flister  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

---

Profa. Dra. Samira Abdalla da Silva  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela proteção e por ser meu guia nessa jornada difícil da vida.

Agradeço aos meus pais, Neurene da Cruz e Adão Passos, minhas irmãs Fernanda e Anna Beatriz, por serem minha estrutura e servirem como base para minha formação.

Agradeço ao meu orientador, Bruno Araújo Serra Pinto, a quem tenho enorme admiração, meu principal referencial profissional, aquele que nas aulas de Fisiologia despertou em mim o sonho de um dia me tornar uma grande pesquisadora; A quem agradeço imensamente pela brilhante orientação durante a execução deste trabalho.

Agradeço à Thamyres Cristhina Lima Costa, por ter se tornado uma grande amiga, a principal companheira na execução e conclusão deste trabalho, sem o qual não seria possível sem ela.

Agradeço aos meus colegas e amigos do laboratório de Fisiologia experimental Victor Vieira, Ludmila Bezerra, Ivana, Suena, Perla Lopes, Thamys Marinho, Caio Coelho, Lucas França, Nathalee Liberal, Jonas Sanches, Savanna Carsi, Ana Paula, Vinicyus Teles, João Miranda, Marcus Barros, Rômulo Brenno, Ana Vitória, Thaiane Coelho que contribuíram para a execução dos experimentos e, sem os quais não seria possível realizar essa pesquisa. Agradeço, especialmente ao Lucas França e Prof<sup>o</sup> Marcus Paes, pelos preciosos ensinamentos e contribuições

Agradeço ao meu melhor amigo Fernando Célio, por ter sido o grande responsável pelo meu trajeto acadêmico e pela escolha da profissão a qual eu sou apaixonada.

Agradeço ao Matheus Brandão, pelo apoio durante a maior parte da minha vida acadêmica e pessoal, pela amizade, pelo carinho, pela motivação, pelo companheirismo e pelas boas conversas de bar.

Agradeço aos meus amigos do grupo “cachacêuticos” em especial, Icaro Rodrigo Dutra, Italo Moraes, Antonio Savyo, Caio Cunha, Vitor Nadler, Fabricio

Lima e Manuel Dávio pelos momentos de alegria e aprendizado durante a academia e por terem tornado minha vida acadêmica mais leve e feliz.

Agradeço aos meus amigos do grupo “E as festas? ” composto pelos meus queridos, Fernando, Alex, Júnior, Amanda e Bruna, pela compreensão por todas as vezes que deixei de me reunir com eles para ir para a bancada do laboratório ou para produzir relatórios. Espero que saibam que o apoio de vocês, nossas reuniões e as boas risadas que demos juntos, foram muito importantes nesta caminhada.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa no Maranhão – FAPEMA pelos recursos concedidos.

Agradeço, finalmente, à banca avaliadora por terem aceito o convite de analisar e avaliar este trabalho.

## RESUMO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é definida como uma condição clínica que engloba um espectro de lesões hepáticas, caracterizadas inicialmente pelo acúmulo de gordura nos hepatócitos e pode evoluir para doenças hepáticas mais graves. A DHGNA é considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica (SM) e tem crescido de forma alarmante especialmente devido ao consumo excessivo de açúcares na dieta contemporânea. Nesse contexto, evidências na comunidade científica têm sugerido a prática de atividade física como estratégia na prevenção e tratamento de doenças crônico-degenerativas como a SM e a DHGNA. Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento resistido como prática de controle da DHGNA induzida por dieta rica em sacarose em ratos. Para isso, foram utilizados ratos Wistar machos com 21 dias de idade, divididos em dois grupos, um grupo recebeu ração padrão (grupo CTR; n=12) e o outro, ração rica em sacarose (grupo DRS; n=12), após 16 semanas estes grupos foram divididos em 4 subgrupos (n=6/grupo): CTR não treinado; CTR-T submetido ao treinamento resistido (CTR-T); DRS não treinado; e DRST submetido ao treinamento resistido. Todos grupos foram acompanhados por 4 semanas. Foram avaliados nestes animais o desenvolvimento ponderal, consumo de ração, desenvolvimento de obesidade, dosagens bioquímicas (glicemia, triglicerídeos, colesterol total, tolerância à glicose e resistência à insulina), histologia e marcadores de dano hepático (dosagem de AST e ALT e estresse oxidativo). O grupo DRS se mostrou com marcante obesidade central, aumento de peso, hipertrigliceridemia, intolerância à glicose, resistência à insulina e desenvolveu esteato-hepatite não alcoólica. Os resultados demonstram que treinamento foi capaz de atenuar o quadro sindrômico dos animais, evidenciando reduções de triglicerídeos séricos e tecido adiposo visceral e melhorando o quadro de resistência à insulina. Associado a isto, o treinamento foi eficaz ao impedir a instalação de graus mais severos da DHGNA demonstrando evidentes reduções dos parâmetros inflamatórios hepáticos e balonização. Este trabalho demonstra que o consumo de sacarose induziu o surgimento de alterações metabólicas características da

DHGNA e SM, bem como uma expressiva melhoria dos parâmetros metabólicos em animais submetidos ao treinamento resistido.

**Palavras-chave:** DHGNA. Síndrome metabólica. Dieta rica em sacarose. Treinamento resistido.



## **ABSTRACT**

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is defined as a clinical condition that encompasses a spectrum of liver damage, initially characterized by accumulation of fat in hepatocytes and may progress to more severe liver disease. DHGNA is considered the liver manifestation of the metabolic syndrome (MS) and has grown at an alarming rate especially due to the excessive consumption of sugars in the contemporary diet. In this context, evidence in the scientific community has suggested the practice of physical activity as a strategy in the prevention and treatment of chronic-degenerative diseases such as MS and NAFLD. This work aims to evaluate the effects of resistance training as a practice of control of NAFLD induced by diet sucrose rich in rats. For this, 21-day-old male Wistar rats were divided into two groups, one group received standard ration (CTR group: n = 12) and the other, sucrose-rich ration (DRS group n = 12) after 16 weeks these groups were divided into 4 subgroups (n = 6 / group): untrained CTR; CTR-T submitted to resistance training (CTR-T); Untrained DRS; and DRST submitted to resistance training. All groups were followed up for 4 weeks. The development of obesity, biochemical measurements (glycemia, triglycerides, total cholesterol, glucose tolerance and insulin resistance), histology and markers of liver damage (AST and ALT dosage and oxidative stress). The DRS group showed markedly central obesity, weight gain, hypertriglyceridemia, glucose intolerance, insulin resistance, and developed non-alcoholic steatohepatitis. The results demonstrate that training was able to attenuate the syndromic picture of the animals, evidencing reductions of serum triglycerides and visceral adipose tissue and improving the insulin resistance. Associated with this, the training was effective in preventing the installation of more severe degrees of NAFLD, demonstrating evident reductions in inflammatory parameters and ballooning. This work demonstrates that the consumption of sucrose induced the appearance of metabolic alterations characteristic of DHGNA and SM, as well as an expressive improvement of metabolic parameters in animals submitted to resistance training.

**Keywords:** NAFLD. Metabolic syndrome. Sucrose rich-diet in. Resistance training

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composições centesimais das dietas padrão e rica em sacarose	23
Tabela 2: Parâmetros morfométricos	31
Tabela 3: Escore histológico de DHGNA	38

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Desenho experimental	24
Figura 2:	Escada de treinamento	27
Figura 3:	Protocolo de treinamento	28
Figura 4:	Evolução ponderal, consumo energético e desenvolvimento de obesidade	30
Figura 5:	Perfil glicêmico, lipídico e grau de resistência à insulina.	33
Figura 6:	Caracterização de danos hepáticos	35
Figura 7:	Lâminas histológicas dos fígados.	38

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGL	Ácidos graxos livres
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP (AMP-activated protein kinase)
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CLK2	<i>Cdc2-like kinase</i>
CTR	Grupo controle
CTRTR	Grupo controle treinado
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNL	Síntese <i>de novo</i> de lipídeos
DRS	Grupo dieta rica em sacarose
DRSTR	Grupo dieta rica em sacarose treinado
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
GLUT-4	Transportador De glicose 4
GTT	Teste de tolerância à glicose
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HFCS	(high-fructose corn syrup) Xarope de milho rico em frutose
IMC	Índice de massa corpórea
JNK	C-jun terminal quinase
MDA	Malondialdeído
NFκB	Fator nuclear kappa B
OMS	Organização mundial da saúde
RI	Resistência insulínica
SM	Síndrome Metabólica
TAG	Triacilglicerol
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
VLDL	Lipoproteínas alta densidade

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1. Justificativa.....	15
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>17</b>
2.1 Obesidade e Síndrome Metabólica .....	17
2.2 Dieta rica em açúcar e disfunções metabólicas .....	18
2.3 Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica.....	19
2.4 Treinamento resistido .....	20
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
3.1 Objetivo geral .....	22
3.2 Objetivos específicos.....	22
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
4.1 Dietas.....	23
4.2 Animais e grupos experimentais .....	23
4.3 Abordagem experimental .....	25
4.4 Avaliação da obesidade.....	25
4.5 Perfil bioquímico .....	25
4.6 Resistência insulínica .....	26
4.7 Avaliação do estresse oxidativo hepático .....	26
4.8 Análise histológica hepática .....	26
4.9 Treinamento resistido .....	27
4.9.1 Familiarização .....	27
4.9.2 Teste para determinação de carga máxima de carregamento .....	27
4.9.3 Sessões de treinamento .....	28
4.10 Análise estatística .....	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>40</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas têm se observado uma marcante alteração do perfil antropométrico da população, principalmente em países em desenvolvimento, caracterizada pela redução do número de desnutridos e aumento dos casos de sobrepeso e obesidade (Bhurosy e Jeewon, 2014). Este fenômeno pode ser atribuído principalmente ao padrão dietético atual, marcado pelo aumento da ingestão de dietas desbalanceadas ricas em açúcares (refrigerantes e bebidas açucaradas) e gorduras (*fast foods*) associados a menor prática de atividade física (Bray e Popkin, 2014). O sedentarismo associado às mudanças negativas nos padrões dietéticos demonstram forte relação com o aumento da incidência de síndrome metabólica (SM) (Poti *et al.*, 2017).

A SM é definida como um conjunto de disfunções metabólicas interconectadas que aumentam os riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* tipo 2 (Alberti *et al.*, 2009). Morbidades como obesidade central, resistência à insulina (RI), dislipidemia aterogênica, hipertensão e distúrbios tromboticos são as principais alterações fisiopatológicas que compõem esta síndrome (Hoffman *et al.*, 2015). Todas estas disfunções são consideradas fatores de risco para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (Gastaldelli, 2010; Kim *et al.*, 2018), assim como a DHGNA é considerada um fator predisponente para o desenvolvimento dos componentes da SM (Lonardo *et al.*, 2018).

A Associação Americana de Estudo de Doenças Hepáticas define a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) como uma condição clínica de fisiopatologia complexa e multifatorial, que engloba um espectro de lesões hepáticas caracterizadas inicialmente pelo acúmulo de gordura nos hepatócitos em quantidades superiores a 5-10% do peso, na ausência de alcoolismo crônico, infecções virais e outras doenças hepáticas (*e.g.* doença de Wilson e hipobetalipoproteinemia) (Tiniakos *et al.*, 2010).

A prevalência de DHGNA tem aumentado globalmente e é caracterizada por muitos pesquisadores como a manifestação hepática da síndrome metabólica (SM) (Ahmed, 2015; Younossi *et al.*, 2016). Estima-se que a

prevalência da DHGNA na população geral é de aproximadamente 25,4%, entretanto este percentual pode se elevar exponencialmente em indivíduos com disfunções metabólicas pré-existentes. Por exemplo, em indivíduos diabéticos esta prevalência eleva-se para 45-85% e entre obesos (índice de massa corporal acima de 30 Kg/m<sup>2</sup>) para cerca de 80 a 95% (Sayiner *et al.*, 2016; Dai *et al.*, 2017). Nesse contexto, estudos destacam a importância de tratar essa disfunção como um problema de saúde pública (Younossi *et al.*, 2018).

A DHGNA engloba um grande número de morbidades hepáticas, ordenadas segundo a gravidade da condição clínica. Normalmente, ela se inicia com uma esteatose simples (acúmulo de gordura hepática e ausência de outras lesões) e pode evoluir para uma esteatohepatite não alcoólica (EHNA), um quadro clínico mais grave caracterizado por esteatose com infiltrado inflamatório e balonização com ou sem presença de fibrose. A EHNA é uma etapa relevante para o desenvolvimento de doenças hepáticas mais graves, como cirrose, falência hepática e carcinoma hepatocelular (Tiniakos *et al.*, 2010; Marengo *et al.*, 2016).

A gênese da DHGNA ainda não está totalmente esclarecida. Sabe-se que fatores genéticos, sócio demográficos, hábitos de vida, dietas desbalanceadas e sedentarismo, são fatores de risco que aumentam as chances para o desenvolvimento de DHGNA, e de forma mais recente, estudos têm sugerido que insultos nutricionais (especialmente consumo excessivo de açúcares) e os consequentes desfechos metabólicos do consumo possam um impacto direto sobre o desenvolvimento da doença (Fierbinteanu-Braticevici *et al.*, 2017).

O impacto do consumo excessivo de açúcares sobre o desenvolvimento de DHGNA e disfunções da SM é muito preocupante, especialmente pelo expressivo crescimento do consumo destes açúcares na dieta contemporânea (Bray *et al.*, 2004). Neste contexto, cerca de 23,4 % da população adulta brasileira e 14,4% da maranhense consomem diariamente açúcares de adição (*e.g.* sacarose e frutose) na forma de edulcorantes em alimentos processados e refrigerantes (Claro *et al.*, 2015), porcentagens estas muito superiores ao preconizado pela OMS (Levy *et al.*, 2012).

Somando a este consumo elevado, uma série de evidências demonstra uma correlação direta entre o consumo destes açúcares e o desenvolvimento de



desordens metabólicas, como obesidade, hipertrigliceridemia, DHGNA e resistência à insulina (Kanarek e Orthen-Gambill, 1982; Kanazawa *et al.*, 2003; De Moura *et al.*, 2009).

O consumo de açúcares promove no fígado um desregulação da síntese *de novo* de lipídeos (DNL), processo fisiológico de conversão de carboidratos em ácidos graxos que serão esterificados a triacilgliceróis ou exportados na forma de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (Wang *et al.*, 2015). O excesso de açúcares promove uma sobrecarga da DNL, gerando um expressivo aumento do conteúdo intra-hepático de triglicerídeos (esteatose) e uma exportação excessiva de VLDL, que favorece o acúmulo ectópico de lipídeos no músculo e no fígado, favorecendo a instalação do quadro de RI periférica (Hein *et al.*, 2010). Durante a desregulação da DNL ocorre a sobrecarga da  $\beta$ -oxidação mitocondrial, estresse oxidativo, dislipidemias e sinais inflamatórios, que favorecem a progressão de um esteatose simples para uma esteato-hepatite (Abid *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 2017; Softic *et al.*, 2017).

Indivíduos submetidos a dieta hipercalórica (consistindo em doces, sucos, refrigerantes açucarados) por 3 semanas apresentaram aumento de massa corpórea, triglicerídeos séricos, acúmulo de gordura ectópica hepática e maior expressão de marcadores da DNL, indicando que a gordura hepática se acumula avidamente durante o consumo de carboidratos e possui um papel importante para desregulação da DNL na patogênese da DHGNA (Sevastianova *et al.*, 2012). Em ratos, o consumo de sacarose por 4 meses, levou ao acúmulo de gordura hepática marcada por esteatose macro- e microvesicular, aumento de enzimas envolvidas na síntese de lipídeos e diminuição da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos (Roncal-Jimenez *et al.*, 2011).

Evidências na literatura científica têm demonstrado a importância da atividade física como estratégia não farmacológica na prevenção e tratamento de doenças crônico-degenerativas associadas ao sedentarismo e obesidade (Haskell *et al.*, 2007). Tradicionalmente, o treinamento aeróbio tem sido o modelo experimental de exercício mais utilizado para estudo da interação da prática de atividade física com morbidades associadas ao sedentarismo e obesidade, uma vez que já foi demonstrado que ele é eficiente para melhora da homeostase da glicose e aumento da sensibilidade à insulina (Kim *et al.*, 2014). Por outro lado, estudos conduzidos pelo *American College of Sports Medicine*, tem

demonstrado a relevância do treinamento de força no aumento da força máxima e resistência muscular, além de promover melhorias nas atividades dos sistemas cardiovascular e endócrino, do perfil lipídico e da composição corporal (Mcardle *et al.*, 2001).

Neste sentido, o exercício é um importante estímulo para promover o aumento da síntese proteica e induzir adaptações celulares e teciduais, como por exemplo, aumento de massa magra e do número de mitocôndrias, além de reduzir a sinalização pró-inflamatória (Okada *et al.*, 2004). No entanto, pouco se sabe sobre a influência do treinamento resistido como medida de controle para o desenvolvimento das manifestações hepáticas e sistêmicas da síndrome metabólica. Nesta perspectiva, o presente estudo se propõe a investigar o papel do treinamento resistido como prática de controle da síndrome metabólica e doença hepática gordurosa não alcoólica induzida por dieta rica em sacarose em ratos.

## **1.1 Justificativa**

Mesmo com toda relevância epidemiológica da DHGNA e todos avanços científicos no entendimento da gênese e fisiopatologia desta condição clínica, ainda são escassas estratégias de profilaxia, controle e tratamento da morbidade. Os fármacos disponíveis no mercado, que representam o principal recurso terapêutico, possuem efeito modesto na sintomatologia e diversos efeitos colaterais, além de apresentarem custo elevado, o que limita o seu uso em países subdesenvolvido (Cortez-Pinto, 2009). Nesse contexto, intervenções nutricionais e prática de atividade física emergem como estratégias relevantes na prevenção e manejo da DHGNA (Egli *et al.*, 2013).

A atividade física é recomendada para o controle das alterações metabólica da SM especialmente por promover um aumento das concentrações séricas de HDL e redução da hipertrigliceridemia (Egli *et al.*, 2013), bem como controlar a expansão da obesidade e melhorar a sensibilidade à insulina (Hawley, 2004). Diversos estudos têm sido realizados na tentativa de desvendar os mecanismos pelos quais o exercício físico pode atuar em diversos órgãos afetados pela obesidade, no entanto pouco se sabe como exercícios que utilizam treinamento com aumento de gasto energético juntamente com aplicabilidade de

níveis de força adequados (treinamento resistido), podem atuar no fígado, revertendo dislipidemias, resistência insulínica e regulando a DNL.

Ratos OLETF (espontaneamente diabético tipo 2) que apresentavam obesidade, resistência à insulina e DHGNA, apresentaram uma redução do acúmulo de gordura hepática após exercício físico aeróbio. Sugere-se que esta melhoria se deu pela promoção de maior oxidação hepática de ácidos graxos e redução dos principais intermediários proteicos envolvidos na síntese de ácidos graxos (Rector *et al.*, 2008).

Nesse contexto, hipotetizamos no presente trabalho que o treinamento resistido atua controlando alterações metabólicas sistêmicas, como a obesidade e RI, assim restabelecendo a homeostasia da DNL e o desenvolvimento de DHGNA. Para isso, buscamos avaliar em nosso estudo o papel do treinamento resistido como prática de controle da síndrome metabólica e doença hepática gordurosa não alcoólica induzida por dieta rica em sacarose em ratos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Obesidade e Síndrome metabólica

A obesidade é uma doença multifatorial que figura entre os principais problemas de saúde pública da atualidade. Pode ser definida como um desbalanço entre peso corporal e altura, resultando em aumento de tecido adiposo e é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica (SM) (Gonzalez-Muniesa *et al.*, 2017).

A SM é definida como um conjunto de disfunções metabólicas interconectadas que aumentam os riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* tipo 2 (Alberti *et al.*, 2009). Morbidades como obesidade central, resistência à insulina (RI), dislipidemia aterogênica, hipertensão e distúrbios tromboticos são as principais alterações fisiopatológicas que compõem esta síndrome (Hoffman *et al.*, 2015).

No Brasil, levantamentos apontam que 50% da população apresenta sobrepeso, encontrando-se em uma situação de risco para o desenvolvimento de obesidade (Claro *et al.*, 2015). Os casos de obesidade, especialmente a infantil, mais que duplicaram nos últimos 34 anos, impactando diretamente sobre o aumento da incidência de outras comorbidades associadas a ela, tais como a síndrome metabólica, dislipidemia, resistência insulínica, além de desequilíbrios musculoesqueléticos e cardiovasculares (Oestreich e Moley, 2017).

Na obesidade, o aumento de gordura visceral provoca alterações no tecido adiposo, tais como hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos e menor secreção de adiponectina, o que pode comprometer a sensibilidade dos tecidos à insulina (Badimon e Cubedo, 2017). As células adiposas são responsáveis pelo armazenamento de lipídeos na forma de triacilglicerol (TAG) e pelo fornecimento de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol que irão atender as demandas metabólicas dos órgãos e tecidos. Esse processo é mediado pela lipólise de TAG no tecido adiposo e pode resultar na liberação de AGL no plasma ou na sua reesterificação intracelular nos adipócitos (Langin *et al.*, 2005).

A síntese e degradação de lipídeos no tecido adiposo são reguladas pela ação da insulina, que suprime a ação da lipólise e estimula a captação de glicose. Em condições pós-prandiais, a insulina produzida por células  $\beta$  pancreáticas é

secretada no sangue e liga-se no receptor de insulina, ativando em sequência, a exocitose de canais GLUT-4, para promover o transporte de glicose para os tecidos alvos, como o músculo esquelético e tecido adiposo (McCracken *et al.*, 2018). A insulina regula a homeostase da glicose, reduzindo a produção de glicose hepática pela diminuição da biossíntese de glicose (gliconeogênese) e pelo aumento da degradação de glicogênio (glicogenólise) (Postic e Girard, 2008). No entanto, em condições em que os níveis séricos de glicose se encontram frequentemente aumentados, como é o caso da obesidade, ocorre uma hipersecreção de insulina que pode acarretar em hiperinsulinemia. RI e aumento da lipólise no tecido adiposo (Kopelman, 2000). Dessa forma, há uma elevação nos níveis de AGL circulantes e promoção da deposição desses componentes em outros tecidos, tais como fígado e músculo esquelético (Guilherme *et al.*, 2008).

## **2.2 Dieta rica em açúcar e disfunções metabólicas**

Os açúcares são utilizados na dieta devido a sua característica altamente palatável, e isso os leva a serem adicionados a alimentos que já possuam teores de açúcar naturalmente ou como um mascarador de sabores não muito agradáveis. Os açúcares de adição são consumidos em bebida e alimentos processados em concentrações que fornecem uma carga glicêmica e assumem diversas formas, sendo elas cristalina, refinada, xarope de milho (HFCS), dentre outras formas igualmente calóricas (Dinicolantonio e Berger, 2016).

A sacarose é um dissacarídeo que consiste em um monômero de glicose e um monômero de frutose ligado por ligações glicosídicas. Um número considerável de estudos tem relacionado o consumo de frutose com disfunções metabólicas, e esses estudos podem ter implicações para a sacarose, visto que é a principal fonte de frutose dietética no mundo todo (Oliveira *et al.*, 2014). Nesse contexto, Bray e Popkin (2014), destacam a influência das dietas ricas em açúcar e sua associação com a epidemia de obesidade e diabetes *mellitus* tipo 2.

O excesso de açúcares na dieta implica em um série de desregulações metabólicas, atingindo diversos órgãos em resposta a SM instaurada. Indivíduos submetidos a dieta hipercalórica (consistindo em doces, sucos, refrigerantes

açucarados) por 3 semanas apresentaram aumento de massa corpórea, triglicerídeos séricos, acúmulo de gordura ectópica hepática e maior expressão de marcadores da DNL, indicando que a gordura hepática se acumula avidamente durante o consumo de carboidratos e possui um papel importante para desregulação da DNL na patogênese da DHGNA (Sevastianova *et al.*, 2012). Em ratos, o consumo de sacarose por 4 meses, levou ao acúmulo de gordura hepática marcada por esteatose macro- e microvesicular, aumento de enzimas envolvidas na síntese de gordura e diminuição da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos (Roncal-Jimenez *et al.*, 2011).

Nos últimos anos nosso grupo de pesquisa tem se focado no entendimento das vias de sinalização molecular compartilhadas pelas disfunções metabólicas e alterações hepáticas induzidas pelo consumo excessivo de açúcares de adição. Evidenciamos que o consumo precoce de sacarose em camundongos é capaz de estabelecer um conjunto de disfunções metabólicas, que por sua vez proporcionam e aceleram o desenvolvimento de DHGNA, que quando instaurada agrava expressivamente estas alterações metabólicas, gerando um ciclo vicioso. Demonstramos também que o estresse oxidativo e estresse do retículo endoplasmático são os intermediários moleculares que conectam as desordens metabólicas e os danos hepáticos (Flister *et al.*, 2018).

### **2.3 Doença hepática gordurosa não alcoólica**

A Associação Americana de Estudo de Doenças Hepáticas define a doença hepática gordurosa não alcoólica como uma condição clínica de fisiopatologia complexa e multifatorial, que engloba um espectro de lesões hepáticas caracterizadas inicialmente pelo acúmulo de gordura nos hepatócitos em quantidades superiores a 5-10% do peso, na ausência de alcoolismo crônico, infecções virais e outras doenças hepáticas (*e.g.* doença de Wilson e hipobetalipoproteinemia) (Tiniakos *et al.*, 2010).

O consumo de açúcares promove no fígado uma desregulação da síntese *de novo* de lipídeos (DNL), processo fisiológico de conversão de carboidratos em ácidos graxos, que serão esterificados a triacilglicerois ou exportados na forma de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (Wang *et al.*, 2015). O excesso de açúcares promove uma sobrecarga da DNL e da  $\beta$ -

oxidação mitocondrial, gerando um expressivo aumento do conteúdo intra-hepático de triglicerídeos (esteatose) e uma exportação excessiva de VLDL, que favorece o acúmulo ectópico de lipídeos, lipotoxicidade, estresse oxidativo, inflamação e a instalação do quadro de resistência à insulina (Hein *et al.*, 2010), que em conjunto, favorecem a progressão de um esteatose simples para uma esteato-hepatite (Choi *et al.*, 2017; Softic *et al.*, 2017).

O acúmulo de lipídeos no fígado parece ser um mecanismo crucial na fisiopatologia da DHGNA. Embora a maioria dos lipídios se acumule como TAG no fígado de pacientes com DHGNA, vários outros metabólitos lipídicos, como AGL, lisofosfatidilcolina, esfingolipídios e colesterol livre também se concentram no fígado durante a doença. Quando em excesso, esses lipídeos podem atuar como moléculas sinalizadoras e desencadear processos apoptóticos que contribuem para progressão da doença (Ntambi, 2015).

A prática de exercício físico ocorre como um fator preponderante para atenuação de desbalanços energéticos e metabólicos ligados a DHGNA. Hashida *et al.* (2017) cita alguns dos mecanismos pelos quais o exercício físico atua na atenuação da DHGNA, tais como o aumento da lipólise dos tecidos adiposos e a regulação positiva da  $\beta$ -oxidação, aumento da expressão do transportador de glicose (GLUT 4) provocando regulação positiva da glicose e melhora de resistência à insulina e atenuação do perfil inflamatório de indivíduos obesos e com DHGNA.

## **2.4 Treinamento resistido**

O exercício físico tem sido o modelo experimental para estudo da interação da prática de atividade física com morbidades associadas ao sedentarismo e obesidade, uma vez que já foi demonstrado que ele é eficiente para melhora da homeostase da glicose e aumento da sensibilidade à insulina (Kim *et al.*, 2014). No entanto, há diversas modalidades de exercício físico, dentre as quais se destaca o treinamento resistido. Estudos feitos pelo *American College of Sports Medicine* tem demonstrado melhorias nas atividades dos sistemas cardiovascular e endócrino, do perfil lipídico e da composição corporal (Mcardle *et al.*, 2001).

O treinamento resistido pode melhorar o quadro de DHGNA e, portanto, pode ser mais viável do que o exercício aeróbico para pacientes com DHGNA,

especialmente para pacientes com baixa aptidão cardiorrespiratória ou para aqueles que não podem tolerar ou participar em exercício aeróbico (idosos, pacientes com obesidade em grau elevado) (Kim *et al.*, 2016). Botzelli *et al.* (2016) demonstrou em estudos em modelo animal que o treinamento resistido preveniu a hiperinsulinemia, resistência insulínica e atenuou acúmulo de gordura hepática e quadro inflamatório hepático provocados por dieta rica em frutose.

A atividade física é recomendada para o controle das alterações metabólicas da SM especialmente por promover um aumento das concentrações séricas de HDL e redução da trigliceridemia (Egli *et al.*, 2013), bem como controlar a expansão da obesidade e melhorar a sensibilidade à insulina (Hawley, 2004). Diversos estudos têm sido realizados na tentativa de desvendar os mecanismos pelos quais o exercício físico pode atuar em diversos órgãos afetados pela obesidade, no entanto pouco se sabe como exercícios que utilizam treinamento com aumento de gasto energético juntamente com aplicabilidade de níveis de força adequados (treinamento resistido), podem atuar no fígado, revertendo dislipidemias, resistência insulínica e regulando a DNL.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o impacto do treinamento resistido como alternativa de controle da síndrome metabólica e doença hepática gordurosa não alcoólica induzida por consumo crônico de sacarose.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o desenvolvimento de síndrome metabólica e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) induzidas pela exposição precoce e sustentada à dieta rica em sacarose em ratos;
- Investigar os achados histopatológicos envolvidos na gênese da DHGNA e a influência do treinamento resistido sobre os mesmos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Dietas

Para este estudo foram utilizadas a dieta padrão para roedores em formato de pellets (Nuvilab<sup>®</sup>, Nuvital) e também dieta rica em sacarose (DRS) produzida a partir da adição de 40% de Leite condensado Moça<sup>®</sup> (Nestle) e 18,5% de açúcar refinado à ração padrão pulverizada (40% da mistura total). Após a adição dos componentes formou-se uma mistura pastosa que foi moldada para formar *pellets* semelhantes à ração padrão, dessecada em estufa e armazenada em geladeira por no máximo 10 dias. As dietas foram planejadas para terem valores energéticos semelhantes e suas composições centesimais se encontram descritas abaixo (Tabela 1) (Sousa *et al.*, 2018).

**Tabela 1. Composições centesimais das dietas padrão e rica em sacarose**

Composição centesimal	Dieta Padrão	Dieta rica em sacarose
<b>Carboidratos</b>	55,4%	65%
Sacarose	10%	25%
<b>Proteínas</b>	21%	12,3%
<b>Lipídeos</b>	5,2%	4,3%
<b>Valor energético</b>	~ 350 Kcal/100g	~ 350 Kcal/100g

### 4.2 Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 24 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* var. Wistar acompanhados a partir do desmame (21 dias de vida), oriundos do Biotério Central da UFMA e alocados no Biotério Setorial da Pós-graduação da UFMA. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno forradas com xilana (no máximo 4 animais por gaiola) com enriquecimento ambiental, à temperatura  $22 \pm 2$  °C, ciclo claro/escuro de 12 horas e acesso livre a água e ração. Todos os protocolos experimentais que envolvam a manipulação de animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFMA no parecer 23115.018725/2017-19 (em anexo).

O início da abordagem experimental os animais foram randomizados em dois grupos: grupo controle, (CTR - que recebeu ração padrão Nuvilab®, n=12) e grupo dieta rica em sacarose (DRS - que recebeu ração rica em sacarose, n=12). Ambos grupos foram acompanhados pelo período de 16 semanas. Logo após este período, os animais foram subdivididos em quatro novos grupos: grupo CTR (animais que continuaram recebendo apenas ração padrão, n=6), grupo CTRT (que receberam ração padrão e treinamento resistido, n=6), grupo DRS (continuaram recebendo apenas dieta rica em sacarose, n=6), e grupo DRST (que receberam dieta rica em sacarose e treinamento resistido, n=6). Estes novos grupos formados foram acompanhados por mais 4 semanas. O fluxograma do desenho experimental se encontra descrito abaixo (Figura 2).

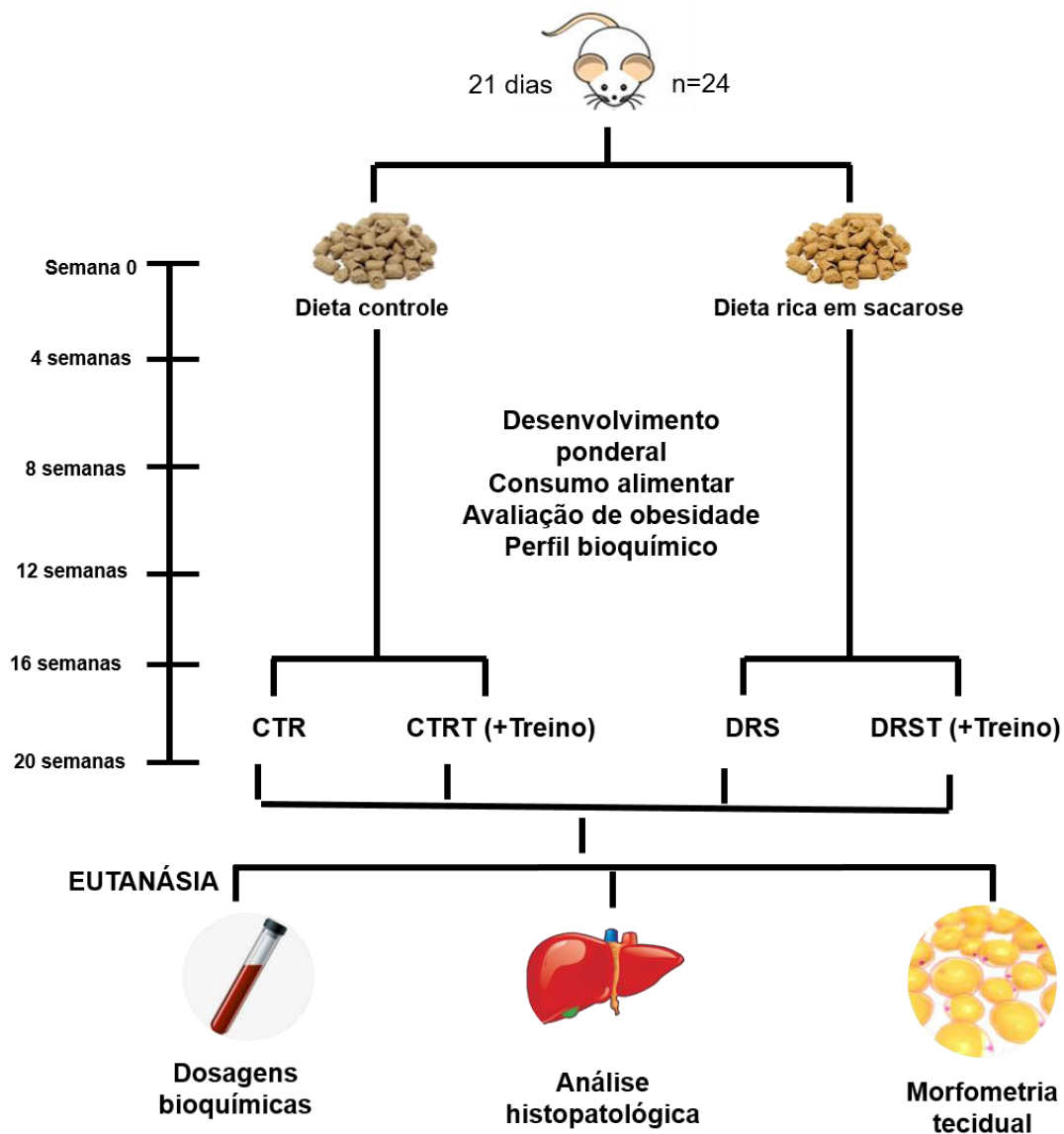


Figura 1. Desenho experimental. Fonte: Autora.

### **4.3 Abordagem experimental**

Durante todo período de acompanhamento, os animais foram pesados três vezes por semana para avaliação do progresso ponderal e consumo alimentar, e mensalmente, foram aferidos os comprimentos naso-anais, para o cálculo do índice de Lee e determinação do desenvolvimento de obesidade, e coletadas alíquotas de sangue periférico por seção da cauda para avaliação da glicemia de jejum e do perfil lipídico. A partir destas dosagens foi determinada o grau de RI (índice TyG).

Após 16 semanas de acompanhamento, os animais foram redistribuídos nos novos grupos experimentais descritos anteriormente e submetidos aos protocolos de familiarização, determinação de carga máxima e sessões do treinamento resistido. 48 horas após a última sessão de treinamento, os animais foram submetidos a jejum por 8 horas, anestesiados (solução de cetamina/xilazina 75:15 mg/kg) e laparotomizados para coleta de órgãos e sangue via artéria mesentérica. O sangue coletado foi utilizado para as determinações bioquímicas finais e foram coletados os coxins adiposos (retroperitoneal, periepididimal e mesentérico) e os fígados desses animais. Os tecidos foram lavados em solução salina, dessecados, pesados e expressos em g/100g de peso do animal. Por fim, alíquotas de tecido hepático foram separadas para análises histológicas e mensuração de produtos de peroxidação lipídica.

### **4.4 Avaliação da obesidade**

O desenvolvimento de obesidade foi determinado pelo cálculo do índice de Lee, dado através do cálculo do quociente da raiz cúbica do peso corporal (g), pelo comprimento naso-anal (cm) (Bernardis e Patterson, 1968).

### **4.5 Perfil bioquímico**

Para a determinação da glicemia de jejum foram coletadas alíquotas de sangue periférico por seção da cauda dos animais após jejum de 8 horas e analisadas em glicosímetro Accu-chek Active® (Roche). Alíquotas do sangue coletado foram submetidas a processo de coagulação e centrifugação (3500 rpm, 10 min) para obtenção do soro, o qual foi utilizado para determinação das concentrações de parâmetros lipídicos (TAG e colesterol total) por métodos colorimétricos utilizando kits laboratoriais (LABTEST®, Brasil). O soro também foi

utilizado para dosagem por avaliação colorimétrica de marcadores de danos hepático, como a atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) e da enzima alanina aminotransferase (ALT) (LABTEST®, Brasil).

#### **4.6 Resistência Insulínica**

Para avaliação de RI periférica foi calculado o índice TyG dado pela equação  $\text{Ln} [\text{glicemia de jejum (mg/dL)} \times \text{TG em jejum (mg/dL)} / 2]$ . (Guerrero-Romero et al., 2010).

#### **4.7 Avaliação de estresse oxidativo**

Amostras de fígado foram homogeneizadas em solução tampão de fosfato 20mM contendo 140 mM KCl e 1 mM EDTA (pH 7,4; 1:10 p / v) e centrifugado (750 x g; 10 min; 4 ° C) para separar o sobrenadante. Em seguida, 150 µL de sobrenadante foram adicionados a 300 µL de Ácido tricloroacético a 10% (Sigma-Aldrich, EUA) (resfriado) e ácido tiobarbitúrico 0,67% (Merck, Alemanha) em sulfato de sódio 7,1% e incubado em banho-maria (80 °C) por 25 min. A mistura foi arrefecida e o cromogênio rosa foi isolado por adição de butanol (2: 1 v / v) seguida de centrifugação (3000 x g; 10 min). A quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinados espectrofotometricamente em 535 nm. A curva de calibração foi realizada usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano (Sigma-Aldrich, EUA) como padrão. Os níveis de TBARS foram expressos como µM de MDA / mg de proteína (Sousa *et al.*, 2018).

#### **4.8 Análise histológica**

Amostras de fígado foram fixadas em solução 10% de formalina tamponada por 24 horas a temperatura ambiente e logo após foram conservadas em etanol a 70% por 20 dias e embebidas em parafina. Para os cortes histológicos foram feitas secções de 5µm de espessura, a diferentes profundidades do tecido, avançando 50 µm de profundidade a cada nova face a ser seccionada. Os cortes foram corados por método de coloração hematoxilina e eosina para identificar a morfologia dos hepatócitos. As lâminas foram analisadas por três avaliadores às cegas de acordo com o escore para avaliação de esteatose e esteato-hepatite (Kleiner *et al.*, 2005).

## 4.9 Treinamento resistido

### 4.9.1 Familiarização

Para adaptar os animais ao protocolo de treinamento de força é feito o processo de familiarização. Pois, para realização do treinamento é necessário que os animais subam em uma escada vertical (1,1 x 0,18 m, degraus de 2cm, inclinação de 80°) (Figura 3). Foram realizadas 3 sessões de familiarização em dias consecutivos, onde os animais aprenderam a realizar a escalada. Quando necessário, um estímulo foi aplicado na cauda do animal para iniciar o movimento. No topo da escada, os ratos alcançam uma caixa de descanso, onde permaneceram por 2 minutos. Este procedimento foi repetido até os animais conseguirem, voluntariamente, realizar a escalada por três vezes consecutivas e sem nenhum estímulo (Hornberger e Farrar, 2004).



**Figura 2. Escada de treinamento.** Escada vertical utilizada para realizar o protocolo de treinamento resistido em ratos. **Fonte:** Autora.

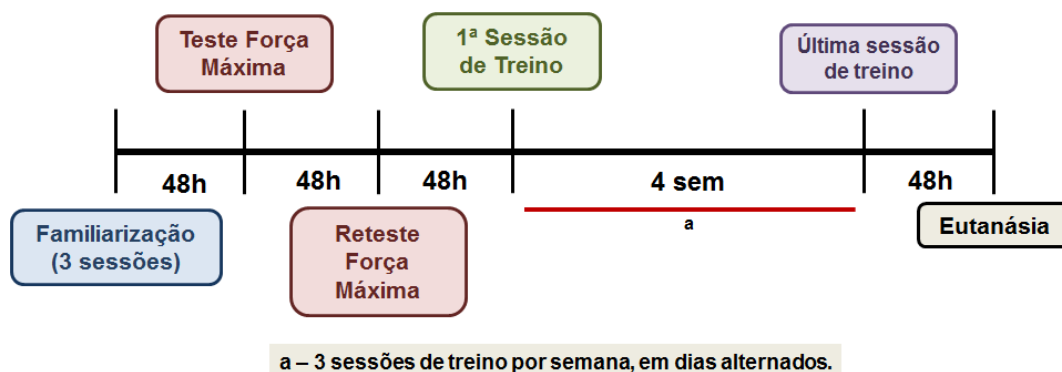
### 4.9.2 Teste para determinação da carga máxima de carregamento

Após a familiarização, foi realizado um teste para determinação da carga máxima de carregamento de cada animal, que consistiu na execução de 4 a 9 escaladas com cargas progressivamente mais pesadas. A escalada inicial foi realizada com uma carga correspondente à 75% do peso corporal do animal. Para cada

escalada bem-sucedida, foi adicionado 30g à carga anterior, até a ocorrência de falha em escalar. A maior carga levada do início da escada até a caixa de descanso foi considerada como a carga máxima de carregamento do rato para aquela sessão de treinamento. Após um intervalo de 48h, foi realizado o re-teste de força máxima para confirmação da carga aferida na primeira medida e considerou-se a maior carga entre os dois testes como a carga máxima (Hornberger e Farrar, 2004).

#### 4.9.3 Sessões de treinamento

Os grupos experimentais foram submetidos a três sessões de treinamento por semana em dias alternados, com cargas correspondentes a 60% do teste de força máxima, pelo período de 30 dias (12 sessões) (Figura 4). Para cada sessão eram realizadas 5 escaladas consecutivas, com 2 minutos de intervalo entre cada uma delas (Hornberger e Farrar, 2004).



**Figura 3. Protocolo de treinamento.** Etapas do protocolo de treinamento resistido executado por ratos Wistar. **Fonte:** Autora.

#### 4.10 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi conduzida no software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc., USA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão das médias. Os dados iniciais, referentes as primeiras 16 semanas de acompanhamento, foram analisados por avaliações de normalidade (teste Kolmogorov-Smirnov) e posteriormente submetidos ao teste de t de Student (não pareado e unicaudal). A partir da semana 17, foi realizada análise de variância – ANOVA (pós-teste Newman Keuls). As diferenças foram consideradas significativas quando  $p \leq 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O excesso de açúcares na alimentação contemporânea se correlaciona diretamente a uma série de desregulações metabólicas, como a obesidade, diabetes e a DHGNA (Bray e Popkin, 2014). E mesmo com toda relevância epidemiológica da DHGNA, ainda são escassas estratégias de profilaxia, controle e tratamento da mesma. Nesse contexto, intervenções nutricionais e prática de atividade física emergem como estratégias relevantes na prevenção e manejo da DHGNA (Egli *et al.*, 2013). Desse modo, o nosso trabalho buscou avaliar se o treinamento resistido é capaz de atenuar os distúrbios metabólicos associados ao desenvolvimento da DHGNA observados em ratos com obesidade induzida por dieta rica em sacarose.

A exposição precoce e contínua à sacarose foi capaz de induzir, a partir da 14<sup>a</sup> semana de acompanhamento, um progressivo aumento de peso corporal nos animais DRS, culminando na última semana de acompanhamento em aumento de 12% em relação ao grupo CTR ( $495,6 \pm 16,7$  vs.  $440,2 \pm 11,8$  g;  $p < 0,05$ ; Figura 4A). Associado ao aumento de peso, os animais DRS também apresentaram obesidade aferida pelo índice de Lee ( $322,0 \pm 2,9$  vs.  $310,8 \pm 1,7$  g<sup>1/3</sup>/cm\*1000;  $p < 0,05$ ; Figura 4C). Por outro lado, a submissão dos animais ao treinamento resistido preveniu tanto o ganho de peso ( $436,6 \pm 5,1$  g;  $p < 0,05$ ) quanto o desenvolvimento de obesidade ( $495,6 \pm 16,7$  vs.  $440,2 \pm 11,8$  g<sup>1/3</sup>/cm\*1000;  $p < 0,05$ ) no grupo DRST, quando comparado ao grupo DRS (Figura 4A).

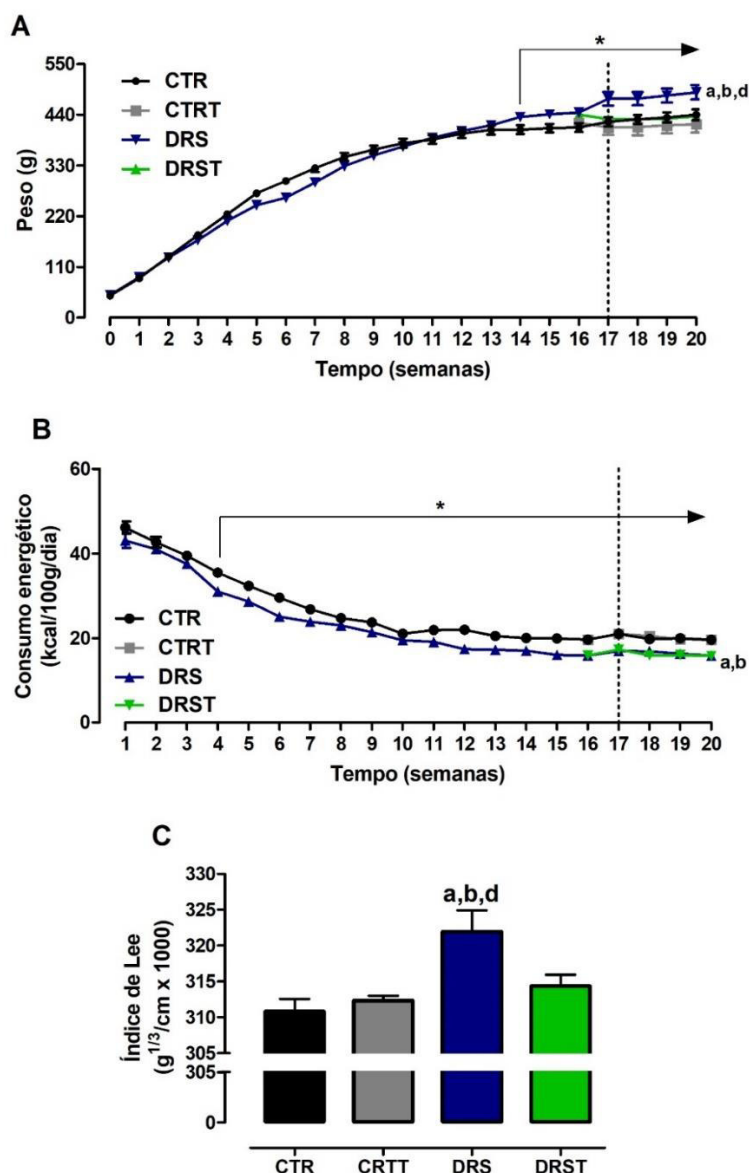
Em concordância com o ganho de massa corpórea, os animais DRS também apresentaram um aumento de 54% dos coxins adiposos retroperitoneal ( $p < 0,001$ ), 29% do mesentérico ( $p < 0,5$ ) e 45% do periepididimal ( $p < 0,01$ ) em relação ao CTR. Por sua vez, o treinamento resistido reduziu o acúmulo dos depósitos adiposos retroperitoneal, mesentérico e periepididimal em 24%, 25% e 21%, respectivamente (Tabela 2).

É importante frisar que o aumento de massa corpórea no grupo DRS ocorreu mesmo com um baixo consumo energético, observado a partir da 4<sup>a</sup> semana e mantido por todo período de acompanhamento ( $4,4 \pm 0,14$  vs.  $5,5 \pm 0,15$  Kcal/100g/dia;  $p < 0,001$ . Figura 4B). O baixo consumo energético está



relacionado com a maior expressão hipotalâmica de malonil-CoA induzido pela glicose e frutose. Com aumento dos níveis centrais de malonil-CoA, neurônios do núcleo arqueado são ativados e respondem com supressão da síntese de neuropeptídeos orexígenos e aumento da síntese daqueles anorexígenos (WOLFGANG et al., 2007).

**Figura** O padrão de consumo não foi alterado nos animais submetidos ao treinamento resistido (Figura 4B).



**Figura 4. Evolução ponderal, consumo energético e desenvolvimento de obesidade.** A, acompanhamento ponderal (g); B, consumo energético (kcal/100g/dia); C, índice de Lee ( $g^{1/3}/cm \times 1000$ ). Medidas aferidas em ratos recém desmamados alimentados com ração padrão

(CTR, n=12) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=12) por 20 semanas. A partir da 17<sup>a</sup> semana, metade dos animais em cada grupo foram submetidos a protocolo de treinamento resistido por 4 semanas (CTR<sub>T</sub>, n=6; DRST, n=6). <sup>a,\*</sup> representam diferença em relação ao grupo CTR, <sup>b</sup> ao grupo CTR<sub>T</sub> e <sup>d</sup> ao grupo DRST. Pontos e barras verticais representam média ± SEM, analisados por Teste *t* de Student ou ANOVA one-way com pós-teste de Newman Keuls, para um nível de significância  $p < 0,05$ .

**Tabela 2. Peso relativo dos depósitos de gordura dos grupos experimentais**

<b>Morfometria (g/100g peso)</b>	<b>CTR</b>	<b>CTR<sub>T</sub></b>	<b>DRS</b>	<b>DRST</b>
<b>Gordura retroperitoneal</b>	2,15±0,14	1,87±0,04	<b>3,13±0,2<sup>a,b,d</sup></b>	<b>2,51±0,1<sup>b</sup></b>
<b>Gordura mesentérica</b>	1,13±0,06	1,01±0,03	<b>1,46±0,14<sup>a,b,d</sup></b>	1,09±0,1
<b>Gordura periepididimal</b>	2,04±0,18	1,84±0,1	<b>2,97±0,24<sup>a,b,d</sup></b>	2,35±0,12

Peso relativo (g/100g de peso) dos depósitos de gordura retroperitoneal, mesentérica e periepididimal isolados de ratos sedentários alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=6) e ratos submetidos ao treinamento resistido alimentados com ração padrão (CTR<sub>T</sub>, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRST, n=6). <sup>a</sup> representa diferença em relação ao grupo CTR, <sup>b</sup> ao grupo CTR<sub>T</sub>, <sup>c</sup> ao grupo DRS e <sup>d</sup> ao grupo DRST. Valores representam média ± SEM analisados por ANOVA one-way com pós-teste de Newman Keuls, para um nível de significância  $p < 0,05$ .

Os dados acima apresentados sugerem que a exposição à dieta rica em sacarose iniciada em fase precoce do desenvolvimento (desmame) de ratos Wistar machos e mantida cronicamente por 20 semanas induz um conjunto de alterações morfométricas, tais como aumento do peso corporal e obesidade central.

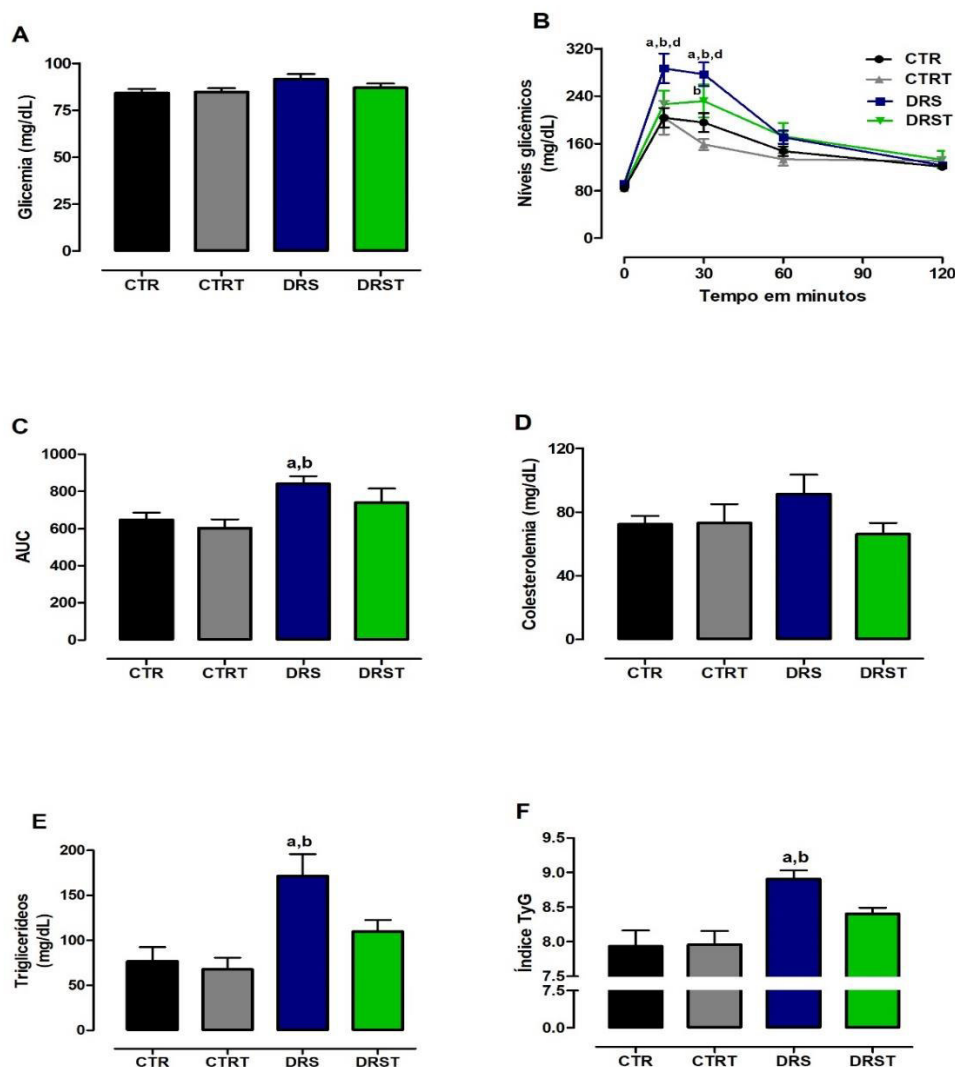
Outros estudos demonstraram a correlação entre o consumo de sacarose e o desenvolvimento de um perfil obesogênico, em diferentes concentrações, formas de administração e tempos de exposição ao açúcares de adição. Em nosso estudo, os animais DRS apresentaram maior peso corporal a partir da 14<sup>a</sup> semana de exposição, entretanto Flister *et al.* (2018) demonstraram aumento do ganho de peso a partir da 5<sup>a</sup> semana de exposição à DRS, enquanto Pinto *et al.* (2016) e Corona-Pérez *et al.* (2015) não observaram diferença de peso corporal entre animais CTR e DRS mesmo após exposição, por 9 e 4 semanas, respectivamente.

Mesmo com variações no que se refere ao ganho ponderal, a grande maioria dos estudos demonstram de forma clara a capacidade dos açúcares de adição em promover obesidade com acúmulo de coxins adiposos viscerais e não-viscerais (Raben *et al.*, 2002; Pinto *et al.*, 2016; Acosta-Cota *et al.*, 2018; Sousa *et al.*, 2018). Este fato pode ser atribuído à grande capacidade lipogênica e adipogênica dos monossacarídeos glicose e frutose, que compõem a sacarose (Tappy e Lê, 2010). Como já constado por outros estudos, quando em excesso, a ingesta da glicose promove a saturação dos receptores de glicose nos tecidos, hiperinsulinemia e posterior hiperglicemia persistente, originando um quadro de RI, glicotoxicidade e fatores que contribuem para o desenvolvimento do *DM* tipo 2.. A frutose é quase que em sua totalidade captada pelo fígado e rapidamente convertida em ácidos graxos que são utilizados na síntese de TAG, secreção de VLDL e hipertrofia adipocitária de forma independente da insulina, gerando um quadro de lipotoxicidade (Parks *et al.*, 2008; Tappy e Lê, 2010).

No que concerne à análise bioquímica, verificou-se que grupo DRS apresentou uma série de alterações metabólicas típicas de um perfil obesogênico quando comparado ao grupo CTR, com aumento de 123% dos níveis séricos de TAG ( $171,6 \pm 24,5$  vs.  $76,81 \pm 16,01$  mg/dL;  $p < 0,01$ ) (Figura 5E), intolerância à glicose (AUC  $873,4 \pm 30,82$  vs.  $616,2 \pm 24,63$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 5B) e RI ( $8,86 \pm 0,11$  vs.  $7,93 \pm 0,22$ ;  $p < 0,01$ ) (Figura 5F). Não houveram alterações significativas nos níveis de colesterol total (Figura 5D) e glicemia de jejum (Figura 5A). A submissão ao treinamento resistido atenuou a hipertrigliceridemia, a intolerância à glicose e a RI do grupo DRST (Figuras 5E, 5B e 5F), visto que, o grupo DRST não diferiu significativamente do grupo DRS e grupo CTR.

Animais submetidos à dieta rica em sacarose demonstram desequilíbrios na homeostase dos níveis lipídicos e glicêmicos, com destaque para o desenvolvimento de hipertrigliceridemia, intolerância à glicose e posterior RI (Kanarek e Orthen-Gambill, 1982; Kanazawa *et al.*, 2003; De Moura *et al.*, 2009). Um trabalho recente de nosso grupo de pesquisa demonstrou a relação temporal entre o consumo de DRS e a desregulação da lipogênese *de novo*, caracterizando a hipertrigliceridemia e a intolerância à glicose como os desfechos bioquímicos precoces nas dietas ricas em sacarose (Flister *et al.*, 2018).

Por sua vez, o exercício físico atua modulando positivamente a maioria das morbidades associadas à SM, visto que ele promove a ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que permite a translocação das vesículas contendo Glut-4 e consequente captação de glicose para o músculo esquelético por meio de um mecanismo independente de insulina (Hayashi *et al.*, 1997), além de reduzir a síntese e promover maior oxidação de ácidos graxos, o que impacta diretamente sobre os níveis lipídicos e acúmulo de tecido adiposo (Simoneau *et al.*, 1999). A atividade física também atua no controle da SM ao reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias com efeito negativo na sinalização da insulina, controlando a instauração do quadro de RI (Hotamisligil, 2006).



**Figura 5. Perfil glicêmico, lipídico e grau de resistência à insulina.** A, glicemia de jejum (mg/dL); B, curva glicêmica (mg/dL) no teste de tolerância à glicose; C, área sobre a curva (AUC) da curva glicêmica do teste de tolerância à glicose; D, níveis de colesterol total (mg/dL); E, níveis de triglicerídeos (mg/dL); F, índice TyG para avaliação de resistência à insulina. Dosagens

realizadas em ratos sedentários alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=6) e ratos submetidos ao treinamento resistido alimentados com ração padrão (CTRT, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRST, n=6). <sup>a</sup> representa diferença em relação ao grupo CTR, <sup>b</sup> ao grupo CTRT e <sup>d</sup> ao grupo DRST. Pontos e barras verticais representam média  $\pm$  SEM, analisados por ANOVA one-way com pós-teste de Newman Keuls, para um nível de significância  $p < 0,05$ .

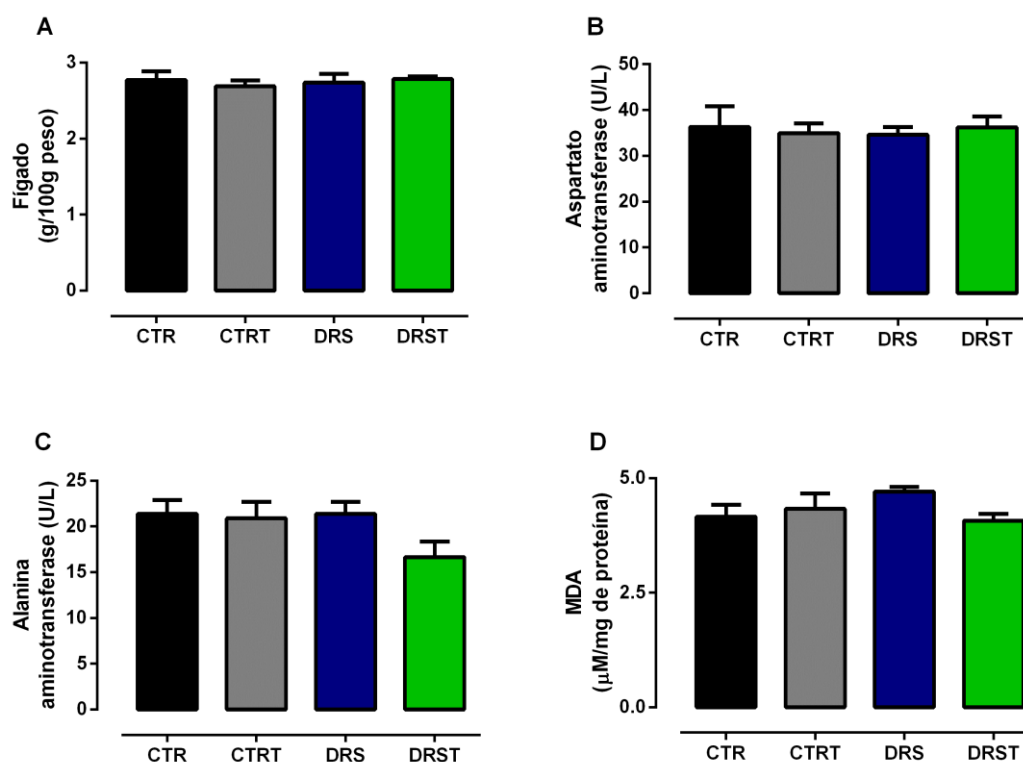
Considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica (Younossi *et al.*, 2016), a DHGA é caracterizada pelo acúmulo de depósitos intra-hepáticos de gordura, podendo estar associada à inflamação e fibrose e evoluir para outras doenças hepáticas mais severas (Younossi *et al.*, 2018). Nesse contexto, modelos animais têm sido amplamente utilizados para investigação da progressão da DHGNA (Van Herck *et al.*, 2017).

Para a caracterização de danos hepáticos e desenvolvimento de DHGNA, inicialmente realizamos a caracterização morfométrica dos fígados dos animais de experimentação; seguido de dosagens dos níveis das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), que são conhecidos marcadores bioquímicos da função hepática; dosagem dos níveis de malondialdeídos livres, para determinação do grau de estresse oxidativo; e por fim, realizamos a avaliação histopatológica do fígado, que é considerada a metodologia padrão ouro para investigação da DHGNA (Kleiner *et al.*, 2005).

A análise morfométrica do fígado não demonstrou aumento da massa relativa no grupo DRS em relação ao CTR (Figura 6A) e, assim como o peso ponderal, a análise morfométrica do fígado também é um parâmetro de grande variação entre os diversos estudos, com relatos de aumento do peso relativo hepático (Fatani *et al.*, 2011; Fernandes-Lima *et al.*, 2015) e outros sem alteração relevante de massa (Pinto *et al.*, 2016; Softic *et al.*, 2017; Acosta-Cota *et al.*, 2018).

As enzimas amino transferase (ALT e AST) são importantes biomarcadores de dano hepatocelular, tendo em vista que são enzimas exclusivamente intra-celulares (predominantemente intra-hepáticas) e encontradas no plasma somente em casos de lesão celular. A elevação dessas enzimas é a anormalidade mais comumente encontrada em rotina de testes hepáticos, tornando-se, por isso, marcador útil para diagnóstico e monitoramento de doenças no fígado, mesmo que de caráter não conclusivo (Ni *et al.*, 2012).

Não foram observadas diferenças entre os grupos no que se refere aos níveis de AST e ALT (Figura 6B-C). Ratos Wistar com esteatose hepática induzida por ração rica em sacarose apresentaram alteração somente dos níveis de ALT (Sousa *et al.*, 2018), enquanto que soluções de sacarose 30% por 16 semanas até levaram a uma redução dos níveis das enzimas em relação ao grupo CTR (Acosta-Cota *et al.*, 2018). Alto conteúdo de frutose parece impactar mais severamente o fígado e causar elevação de ambas enzimas (Botzelli *et al.*, 2012; De Castro *et al.*, 2013). Em humanos, mesmo sendo os marcadores mais comumente solicitados para investigação de DHGNA, demonstram respostas inconclusivas (Wong *et al.*, 2018). De fato, adolescentes hispânicos com mais de 8% de gordura hepática diagnosticada por exames de imagem, consumiram massivamente açúcares de adição (glicose e frutose) em refrigerantes e outras bebidas açucaradas e não foram identificadas alterações nos níveis de ambas enzimas (Jin *et al.*, 2014).



**Figura 6. Caracterização de danos hepáticos.** A, peso relativo (g/100g de peso) do fígado; B, níveis de aspartato aminotransferase (U/L); C, níveis de alanina aminotransferase (U/L); D, níveis de malondialdeído livres ( $\mu$ M/mg de proteína). Dosagens realizadas em ratos sedentários alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=6) e ratos submetidos ao treinamento resistido alimentados com ração padrão (CTRT, n=6) ou dieta rica

em sacarose (DRST, n=6). Barras verticais representam média  $\pm$  SEM, analisados por ANOVA one-way com pós-teste de Newman Keuls, para um nível de significância  $p < 0,05$ .

O malondialdeído (MDA), é um produto de peroxidação lipídica produzido a partir da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados. O MDA é altamente reativo ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e é considerado um importante biomarcador de estresse oxidativo, mais especificamente, da peroxidação dos lipídeos que compõem a membrana celular. O aumento de MDA avalia indiretamente o grau de estresse oxidativo elevado, que é um fator de agravamento de diversas condições patológicas, *e.g.* SM e DHGNA (Tsikas, 2017).

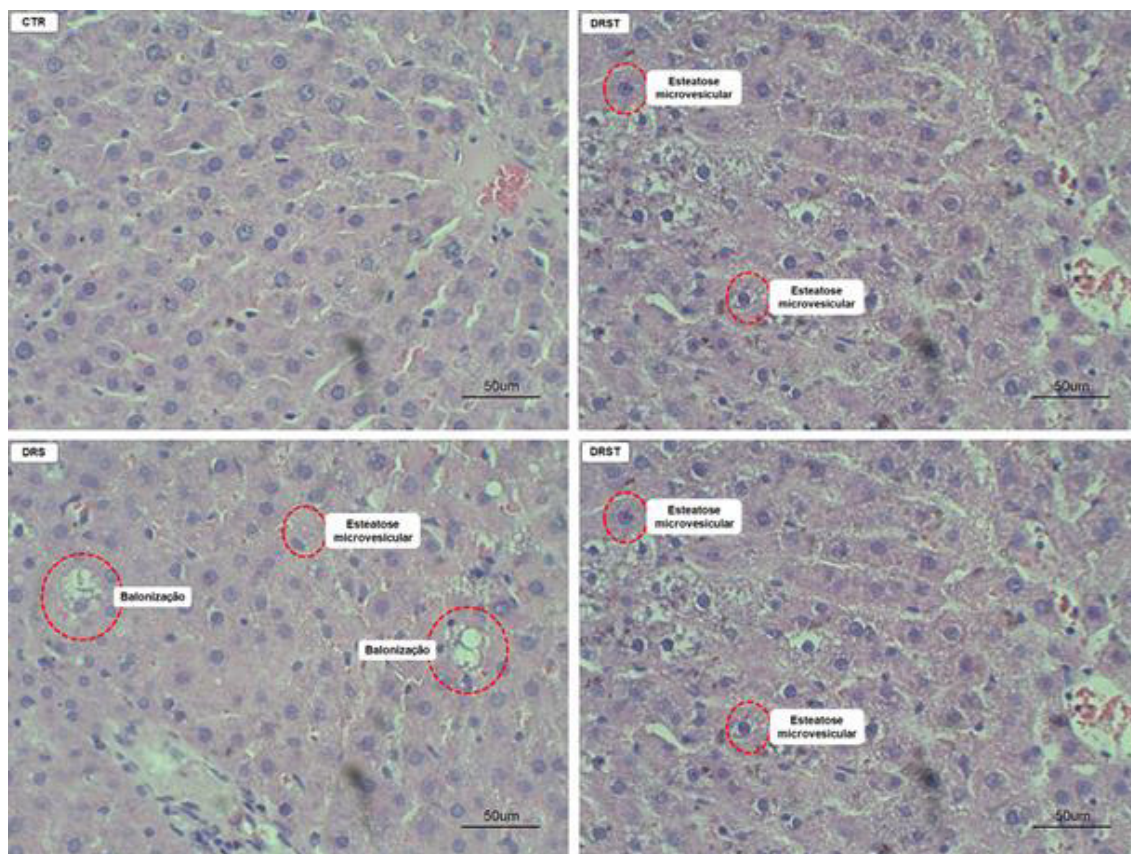
Assim como os outros parâmetros bioquímicos de caracterização de danos hepáticos, a avaliação de estresse oxidativo também não demonstrou resultados significativos entre os grupos (Figura 6D). Níveis elevados de MDA foram encontrados no soro de animais expostos a concentrações elevadas de frutose (Botezelli *et al.*, 2012) e no fígado de ratos com diabetes induzida por aloxana (Hamdena *et al.*, 2009) ou expostos a ração rica em sacarose (Sousa *et al.*, 2018). Entretanto, Flister *et al.* (2018) avaliou os níveis hepáticos de MDA em camundongos expostos à ração rica em sacarose por 30, 60 e 90 dias e observou um discreto aumento da peroxidação lipídica somente no último período, contudo danos hepáticos já tinham sido constatados via análise histológica nos períodos anteriores, demonstrando que a ausência de lipoperoxidação, como observado em nosso estudo, não é conclusiva para isentar o fígado de possíveis danos.

Em nosso estudo, o conjunto de dados exposto na Figura 7 e Tabela 3 evidenciaram que o consumo crônico de sacarose foi capaz de induzir o desenvolvimento de esteatose hepática microvesicular nos grupos DRS ( $p < 0,001$ ) e DRST ( $p < 0,001$ ) em relação aos grupos CTR e CTRT. Associado ao acúmulo de lipídeos intra-hepáticos, os animais DRS também apresentaram inflamação ( $p < 0,001$ ) e balonização ( $p < 0,001$ ), totalizando um escore de danos de  $2,57 \pm 0,3$  ( $p < 0,001$ ) e caracterizando este grupo com presença de EHNA. A hipótese mais aceita para a patogênese da EHNA é a “hipótese dos múltiplos impactos”, em que fatores intestinais, endócrinos e imunológicos podem responder juntos, ou não, sob a progressão da DHGNA e EHNA, onde a

síndrome metabólica exerce um importante papel devido à resistência à insulina e ao processo pró-inflamatório mediado por diferentes proteínas e componentes imunitários. A identidade dos múltiplos “impactos” é diferente em cada paciente e até hoje não está bem definida (Tilg *et al.*,2010). Embora o treinamento resistido não tenha sido eficaz para controlar o desenvolvimento da esteatose simples no grupo DRST, à atividade física teve um efeito hepatoprotetor ao reduzir com sucesso a inflamação ( $p < 0,01$ ) e balonização ( $p < 0,01$ ), impedindo a progressão a um estado mais severo de DHGNA.

Flister *et al.* (2018); Sousa *et al.* (2018) utilizando ração com o mesmo conteúdo de sacarose de nosso estudo, também observaram instauração de esteatose hepática microvesicular em seus animais, entretanto de forma menos acentuada e sem presença dos danos associados (inflamação e balonização). Acreditamos que esta discrepância seja decorrente da maior severidade de disfunções metabólicas encontradas em nossos animais DRS. Ratos expostos a dieta rica em sacarose 32% por 8 semanas apresentaram um aumento de 232% do conteúdo de gordura hepática e desenvolvimento de esteatose micro- e macrovesicular (Oliveira *et al.*, 2014), enquanto que ratos expostos a dieta altamente palatável (constituída de 30% de leite condensado e 7% de açúcar refinado) por 15 semanas desenvolveram EHNA sem fibrose e hepatocarcinoma (Fatani *et al.*, 2011). Estes estudos sugerem que os danos hepáticos observados foram decorrentes de resistência insulínica, alteração das vias lipogênicas, estresse oxidativo e estresse do retículo endoplasmático.





**Figura 7. Lâminas histológicas dos fígados.** Lâminas histológicas dos fígados (50µm; 200x) de ratos sedentários alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=6) e ratos submetidos ao treinamento resistido alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRST, n=6).

**Tabela 3. Escore histopatológico de lesões hepáticas**

	CTR	CTR	DRS	DRST
<b>Esteatose</b>	0,42 ± 0,09	0,61 ± 0,13	<b>1,38 ± 0,08<sup>a,b</sup></b>	<b>1,28 ± 0,13<sup>a,b</sup></b>
<b>Inflamação</b>	0 ± 0	<b>0,3 ± 0,05<sup>a</sup></b>	<b>0,76 ± 0,17<sup>a,b</sup></b>	<b>0,35 ± 0,07<sup>a,c</sup></b>
<b>Balonização</b>	0 ± 0	0 ± 0	<b>0,52 ± 0,09<sup>a,b,d</sup></b>	0,23 ± 0,09
<b>Total</b>	0,45 ± 0,09	0,88 ± 0,18	<b>2,57 ± 0,3<sup>a,b</sup></b>	<b>1,85 ± 0,21<sup>a,b,c</sup></b>

Escore histopatológico de lesões hepáticas de ratos sedentários alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRS, n=6) e ratos submetidos ao treinamento resistido alimentados com ração padrão (CTR, n=6) ou dieta rica em sacarose (DRST, n=6). <sup>a</sup> representa diferença em relação ao grupo CTR, <sup>b</sup> ao grupo CTRT, <sup>c</sup> ao grupo DRS e <sup>d</sup> ao grupo DRST. Valores representam média ± SEM, analisados por ANOVA one-way com pós-teste de Newman Keuls, para um nível de significância  $p < 0,05$ .

Diversas são as causas para o acúmulo de lipídeos nos hepatócitos relacionado ao consumo de açúcares de adição, com destaque para o desequilíbrio entre síntese e exportação de lipídeos, disfunção das vias lipogênicas, diminuição da lipólise e  $\beta$ -oxidação, estresse oxidativo e estresse do retículo endoplasmático (Koteish e Diehl, 2001).

São escassos os estudos que buscam estabelecer o exercício físico como uma medida de controle para o desenvolvimento de doenças hepáticas. Camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica submetidos a treinamento aeróbico em esteira rolante por 8 semanas apresentaram uma redução de massa corpórea, melhoria da sensibilidade à insulina e redução de depósitos hepáticos de gordura e estes efeitos foram atribuídos a redução da atividade da *Cdc2-like kinase* (CLK2) pelo treinamento, uma proteína associada a supressão da oxidação de ácidos graxo e cetogênese hepática (Munoz *et al.*, 2018).

Botezelli *et al.* (2016) em seu estudo comparou os efeitos do treinamento aeróbico, resistido e combinado sobre ratos Wistar com obesidade induzida por ração rica em frutose e demonstrou que o treinamento resistido foi mais eficaz em restabelecer a homeostase do eixo glicose/insulina, diminuir o conteúdo de gordura ectópica e inflamação no hepatócito via fosforilação da c-jun terminal quinase (JNK) e ativação do fator nuclear kappa B (NFkB).

Em humanos estes efeitos parecem ser menos pronunciados que em animais. Jovens consumindo excesso de frutose (~75g/dia) e praticando exercício aeróbico de alta intensidade por duas semanas apresentaram menor lipidemia pós-prandial e menor concentração de IL-6 sérica, mas sem melhorias evidentes em nível hepático (Bidwell *et al.*, 2014). Indivíduos de meia-idade com DHGNA submetidos a exercício aeróbico de intensidade moderada e sem alterações do padrão alimentar apresentaram melhoria da sensibilidade periférica à insulina e redução de depósitos de gordura hepática, entretanto esta redução não foi suficiente para melhorar a RI hepática (Cuthbertson *et al.*, 2016).

## 5 CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que a dieta rica em sacarose pode estar associada ao desenvolvimento de obesidade e RI, com consequente desregulação da lipogênese *de novo* e desbalanço lipídico em nível hepático e periférico, acarretando em desenvolvimento de EHNA. O treinamento resistido é capaz de atenuar o quadro de desregulação metabólica e com isso atenuar a esteatose microvesicular associada ao consumo de açúcar e principalmente controlar o quadro inflamatório a nível hepático. Almejamos, para futuros trabalhos, investigar a nível molecular os agentes moduladores desses efeitos benéficos e entender melhor os mecanismos de ação do treinamento resistido como estratégia terapêutica da SM e DHGNA.

## REFERÊNCIAS

ABID, A. et al. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. **J Hepatol**, v. 51, n. 5, p. 918-24, Nov 2009. ISSN 0168-8278.

ACOSTA-COTA, S. D. J. et al. Histopathological and biochemical changes in the development of nonalcoholic fatty liver disease induced by high-sucrose diet at different times. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 97, n. 1, p. 23-36, 2018. ISSN 0008-4212.

AHMED, M. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. **World J Hepatol**, v. 7, n. 11, p. 1450-9, Jun 18 2015. ISSN 1948-5182 (Print).

ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-5, Oct 20 2009. ISSN 1524-4539 (Electronic) 0009-7322 (Linking). Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19805654>>.

BADIMON, L.; CUBEDO, J. Adipose tissue depots and inflammation: effects on plasticity and resident mesenchymal stem cell function. **Cardiovascular research**, v. 113, n. 9, p. 1064-1073, 2017. ISSN 0008-6363.

BERNARDIS, L.; PATTERSON, B. Correlation between'Lee index'and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, n. 4, p. 527-528, 1968. ISSN 0022-0795.

BHUROSY, T.; JEEWON, R. Overweight and obesity epidemic in developing countries: a problem with diet, physical activity, or socioeconomic status? **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014. ISSN 2356-6140.

BIDWELL, A. J. et al. Physical activity offsets the negative effects of a high fructose diet. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 46, n. 11, p. 2091, 2014.

BOTEZELLI, J. D. et al. Fructose-rich diet leads to reduced aerobic capacity and to liver injury in rats. **Lipids in health and disease**, v. 11, n. 1, p. 78, 2012. ISSN 1476-511X.

BOTEZELLI, J. D. et al. Strength Training Prevents Hyperinsulinemia, Insulin Resistance, and Inflammation Independent of Weight Loss in Fructose-Fed Animals. **Sci Rep**, v. 6, p. 31106, Aug 4 2016. ISSN 2045-2322.

BRAY, G. A.; NIELSEN, S. J.; POPKIN, B. M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 4, p. 537-43, Apr 2004. ISSN 0002-9165 (Print)

0002-9165 (Linking). Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15051594>>.

BRAY, G. A.; POPKIN, B. M. Dietary sugar and body weight: have we reached a crisis in the epidemic of obesity and diabetes?: health be damned! Pour on the sugar. **Diabetes care**, v. 37, n. 4, p. 950-956, 2014. ISSN 0149-5992.

CHOI, Y.; ABDELMEGEED, M. A.; SONG, B. J. Diet high in fructose promotes liver steatosis and hepatocyte apoptosis in C57BL/6J female mice: Role of disturbed lipid homeostasis and increased oxidative stress. **Food Chem Toxicol**, v. 103, p. 111-121, May 2017. ISSN 0278-6915.

CLARO, R. M. et al. Consumo de alimentos não saudáveis relacionados a doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 2, p. 257-265, 2015. ISSN 1679-4974.

CORONA-PÉREZ, A. et al. High sucrose intake ameliorates the accumulation of hepatic triacylglycerol promoted by restraint stress in young rats. **Lipids**, v. 50, n. 11, p. 1103-1113, 2015. ISSN 0024-4201.

CORTEZ-PINTO, H. Tratamento da esteatohepatite não alcoólica (EHNA). **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79, n. 1, 2009. ISSN 0016-545X.

CUTHBERTSON, D. J. et al. Dissociation between exercise-induced reduction in liver fat and changes in hepatic and peripheral glucose homeostasis in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical science**, v. 130, n. 2, p. 93-104, 2016. ISSN 0143-5221.

DAI, W. et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**, v. 96, n. 39, p. e8179, Sep 2017. ISSN 0025-7974.

DE CASTRO, U. G. et al. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. **Lipids Health Dis**, v. 12, p. 136, Sep 18 2013. ISSN 1476-511x.

DE MOURA, R. F. et al. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. **British journal of nutrition**, v. 101, n. 08, p. 1178-1184, 2009. ISSN 1475-2662.

DINICOLANTONIO, J. J.; BERGER, A. Added sugars drive nutrient and energy deficit in obesity: a new paradigm. **Open Heart**, v. 3, n. 2, p. e000469, 2016. ISSN 2053-3624 (Print) 2053-3624.

EGLI, L. et al. Exercise prevents fructose-induced hypertriglyceridemia in healthy young subjects. **Diabetes**, p. DB\_121651, 2013. ISSN 0012-1797.

FATANI, S. et al. The effects of diet-induced obesity on hepatocyte insulin signaling pathways and induction of non-alcoholic liver damage. **Int J Gen Med**, v. 4, p. 211-9, Mar 15 2011. ISSN 1178-7074.

FERNANDES-LIMA, F. et al. Short Exposure to a High-Sucrose Diet and the First 'Hit' of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. **Cells Tissues Organs**, v. 201, n. 6, p. 464-472, -2016 2015. ISSN 1422-6405.

FIERBINTEANU-BRATICEVICI, C. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: one entity, multiple impacts on liver health. **Cell biology and toxicology**, v. 33, n. 1, p. 5-14, 2017. ISSN 0742-2091.

FLISTER, K. F. T. et al. Long-term exposure to high-sucrose diet down-regulates hepatic endoplasmic reticulum-stress adaptive pathways and potentiates de novo lipogenesis in weaned male mice. **J Nutr Biochem**, v. 62, p. 155-166, Dec 2018. ISSN 0955-2863.

GASTALDELLI, A. Fatty liver disease: the hepatic manifestation of metabolic syndrome. **Hypertens Res**, v. 33, n. 6, p. 546-7, Jun 2010. ISSN 0916-9636.

GONZALEZ-MUNIESA, P. et al. Obesity. **Nat Rev Dis Primers**, v. 3, p. 17034, Jun 15 2017. ISSN 2056-676x.

GUERRERO-ROMERO, F. et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 7, p. 3347-3351, 2010. ISSN 0021-972X.

GUILHERME, A. et al. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 9, n. 5, p. 367-77, May 2008. ISSN 1471-0072.

HAMDENA, K.; CARREAUB, S.; ELFEKI, A. Inhibitory effects of Zinc on hyperglycaemia and metabolic disorders in the liver of alloxan-induced diabetic rats. **Asian Biomed**, v. 3, p. 745-750, 2009.

HASHIDA, R. et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. **J Hepatol**, v. 66, n. 1, p. 142-152, Jan 2017. ISSN 0168-8278.

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, 2007.

HAWLEY, J. A. Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and treatment of insulin resistance. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 20, n. 5, p. 383-393, 2004. ISSN 1520-7552.

HAYASHI, T.; WOJTASZEWSKI, J. F.; GOODYEAR, L. J. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. **Am J Physiol**, v. 273, n. 6, p. E1039-51, Dec 1997. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513.

HEIN, G. J. et al. Nuclear receptors and hepatic lipogenic enzyme response to a dyslipidemic sucrose-rich diet and its reversal by fish oil n-3 polyunsaturated fatty acids. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 298, n. 3, p. E429-39, Mar 2010. ISSN 0193-1849.

HOFFMAN, E. L.; VONWALD, T.; HANSEN, K. The metabolic syndrome. **S D Med**, v. Spec No, p. 24-8, 2015. ISSN 0038-3317 (Print) 0038-3317.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004. ISSN 1066-7814 (Print) 1066-7814.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860-867, 2006. ISSN 0028-0836.

JIN, R. et al. Dietary fructose reduction improves markers of cardiovascular disease risk in Hispanic-American adolescents with NAFLD. **Nutrients**, v. 6, n. 8, p. 3187-3201, 2014.

KANAREK, R. B.; ORTHEN-GAMBILL, N. Differential effects of sucrose, fructose and glucose on carbohydrate-induced obesity in rats. **J Nutr**, v. 112, n. 8, p. 1546-54, Aug 1982. ISSN 0022-3166 (Print) 0022-3166 (Linking). Disponible em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7047694>>.

KANAZAWA, M. et al. Effects of a high-sucrose diet on body weight, plasma triglycerides, and stress tolerance. **Nutr Rev**, v. 61, n. 5 Pt 2, p. S27-33, May 2003. ISSN 0029-6643 (Print) 0029-6643 (Linking). Disponible em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12828189>>.

KIM, D.; TOUROS, A.; KIM, W. R. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. **Clin Liver Dis**, v. 22, n. 1, p. 133-140, Feb 2018. ISSN 1089-3261.

KIM, H. J. et al. Effect of aerobic training and resistance training on circulating irisin level and their association with change of body composition in overweight/obese adults: a pilot study. **Physiol Res**, v. 65, n. 2, p. 271-9, Jun 2016. ISSN 0862-8408.

KIM, K. et al. Effect of exercise intensity on unfolded protein response in skeletal muscle of rat. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 18, n. 3, p. 211-216, 2014. ISSN 1226-4512.

KLEINER, D. E. et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 41, n. 6, p. 1313-21, Jun 2005. ISSN 0270-9139 (Print) 0270-9139.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 635, 2000. ISSN 1476-4687.

KOTEISH, A.; DIEHL, A. M. Animal models of steatosis. **Semin Liver Dis**, v. 21, n. 1, p. 89-104, 2001. ISSN 0272-8087 (Print) 0272-8087.

LANGIN, D. et al. Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity. **Diabetes**, v. 54, n. 11, p. 3190-3197, 2005. ISSN 0012-1797.

LEVY, R. B. et al. Disponibilidade de "açúcares de adição" no Brasil: distribuição, fontes alimentares e tendência temporal. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, p. 3-12, 2012. ISSN 1415-790X.

LONARDO, A. et al. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? **J Hepatol**, v. 68, n. 2, p. 335-352, Feb 2018. ISSN 0168-8278.

MARENGO, A.; JOUNESS, R. I.; BUGIANESI, E. Progression and Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Adults. **Clin Liver Dis**, v. 20, n. 2, p. 313-24, May 2016. ISSN 1089-3261.

MCARDLE, A. et al. Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 280, n. 3, p. C621-C627, 2001. ISSN 1522-1563.

MCCRACKEN, E.; MONAGHAN, M.; SREENIVASAN, S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. **Clin Dermatol**, v. 36, n. 1, p. 14-20, Jan - Feb 2018. ISSN 0738-081x.

MUNOZ, V. R. et al. Exercise decreases CLK2 in the liver of obese mice and prevents hepatic fat accumulation. **J Cell Biochem**, v. 119, n. 7, p. 5885-5892, Jul 2018. ISSN 0730-2312.

NI, H.; SOE, H. H. K.; HTET, A. Determinants of abnormal liver function tests in diabetes patients in Myanmar. **International Journal of Diabetes Research**, v. 1, n. 3, p. 36-41, 2012.

NTAMBI, J. M. **Hepatic de novo lipogenesis and regulation of metabolism**. Springer, 2015. ISBN 3319250655.

OESTREICH, A. K.; MOLEY, K. H. Developmental and transmittable origins of obesity-associated health disorders. **Trends in Genetics**, v. 33, n. 6, p. 399-407, 2017. ISSN 0168-9525.



OKADA, K.-I. et al. Prolonged endoplasmic reticulum stress in hypertrophic and failing heart after aortic constriction. **Circulation**, v. 110, n. 6, p. 705-712, 2004. ISSN 0009-7322.

OLIVEIRA, L. S. et al. The inflammatory profile and liver damage of a sucrose-rich diet in mice. **J Nutr Biochem**, v. 25, n. 2, p. 193-200, Feb 2014. ISSN 0955-2863.

PARKS, E. J. et al. Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1039-1046, 2008. ISSN 0022-3166.

PINTO, B. A. S. et al. Early and sustained exposure to high-sucrose diet triggers hippocampal ER stress in young rats. **Metabolic brain disease**, p. 1-11, 2016. ISSN 0885-7490.

POSTIC, C.; GIRARD, J. The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis. **Diabetes & metabolism**, v. 34, n. 6, p. 643-648, 2008. ISSN 1262-3636.

POTI, J. M.; BRAGA, B.; QIN, B. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health—Processing or Nutrient Content? **Current obesity reports**, v. 6, n. 4, p. 420-431, 2017. ISSN 2162-4968.

RABEN, A. et al. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. **The American journal of clinical nutrition**, v. 76, n. 4, p. 721-729, 2002. ISSN 0002-9165.

RECTOR, R. S. et al. Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 294, n. 3, p. G619-G626, 2008. ISSN 0193-1857.

RONCAL-JIMENEZ, C. A. et al. Sucrose induces fatty liver and pancreatic inflammation in male breeder rats independent of excess energy intake. **Metabolism**, v. 60, n. 9, p. 1259-1270, 2011. ISSN 0026-0495.

SAYINER, M. et al. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. **Clin Liver Dis**, v. 20, n. 2, p. 205-14, May 2016. ISSN 1089-3261.

SEVASTIANOVA, K. et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans—. **The American journal of clinical nutrition**, v. 96, n. 4, p. 727-734, 2012. ISSN 0002-9165.

SIMONEAU, J. A. et al. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. **Faseb j**, v. 13, n. 14, p. 2051-60, Nov 1999. ISSN 0892-6638 (Print) 0892-6638.

SOFTIC, S. et al. Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. **J Clin Invest**, Oct 03 2017. ISSN 0021-9738.

SOUSA, R. M. L. et al. Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats. **Nutr Metab (Lond)**, v. 15, p. 53, 2018. ISSN 1743-7075 (Print) 1743-7075.

TAPPY, L.; LÉ, K.-A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. **Physiological reviews**, v. 90, n. 1, p. 23-46, 2010. ISSN 0031-9333.

TILG, Herbert; MOSCHEN, Alexander R. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. **Hepatology**, v. 52, n. 5, p. 1836-1846, 2010.

TINIAKOS, D. G.; VOS, M. B.; BRUNT, E. M. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. **Annu Rev Pathol**, v. 5, p. 145-71, 2010. ISSN 1553-4006. Disponível em: <  
[http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurevpathol121808102132?url\\_ver=Z39.882003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dpubmedhttp://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurevpathol121808102132?url\\_ver=Z39.882003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dpubmed](http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurevpathol121808102132?url_ver=Z39.882003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmedhttp://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurevpathol121808102132?url_ver=Z39.882003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed)>.

TSIKAS, D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. **Anal Biochem**, v. 524, p. 13-30, May 1 2017. ISSN 0003-2697.

VAN HERCK, M. A.; VONGHIA, L.; FRANQUE, S. M. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-A Starter's Guide. **Nutrients**, v. 9, n. 10, Sep 27 2017. ISSN 2072-6643.

WANG, Y. et al. Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 16, n. 11, p. 678-89, Nov 2015. ISSN 1471-0072.

WONG, V. W.-S. et al. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH—current progress and future promise. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 15, n. 8, p. 461, 2018. ISSN 1759-5053.

WOLFGANG, Michael J. et al. Regulation of hypothalamic malonyl-CoA by central glucose and leptin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 104, n. 49, p. 19285-19290, 2007.

YOUNOSSI, Z. et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 15, n. 1, p. 11, 2018. ISSN 1759-5053.

YOUNOSSI, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. **Hepatology**, v. 64, n. 1, p. 73-84, Jul 2016. ISSN 0270-9139.

**ANEXO A**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-CEUA**  
**CIAEP:01.0341.2014**

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Impacto do treinamento resistido sobre o desenvolvimento de estresse do retículo endoplasmático no tecido muscular esquelético de ratos obesos" registrada com o nº 23115.018725/2017-19, sob a responsabilidade de **Antônio Marcus de Andrade Paes**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão.

FINALIDADE	( ) ENSINO (X) PESQUISA ( ) EXTENSÃO
Vigência da autorização	01/03/2018 a 30/06/2018
Especie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> , Wistar
Nº de animais	28
Peso/Idade	45 a 60g/21 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho  
 Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA