



AVALIAÇÃO DO TREINAMENTO AERÓBIO NO *BROWNING* DO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS *WISTAR* ADULTOS DESNUTRIDOS DURANTE A LACTAÇÃO

*Khauana Carvalho de Lima*¹, *Julia Elena Lukaszewski*², *Rodrigo Vargas*³

¹Acadêmica do Curso de Medicina, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Campus Maringá-PR. Programa Voluntário de Iniciação Científica da UniCesumar – PVIC/UniCesumar. ra-19139248-2@alunos.unicesumar.du.br

² Acadêmica do Curso de Medicina, Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Campus Maringá-PR. ra-19126282-2@alunos.unicesumar.edu.br

³Orientador, Mestre, Departamento de Medicina, UNICESUMAR. Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. rodrigo.vargas@docentes.unicesumar.edu.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estimar os efeitos do exercício aeróbio em ratos Wistar machos que sofreram restrição protéica durante a lactação, analisando o *browning* do tecido adiposo. Ao nascerem, os filhotes foram divididos em dois grupos experimentais: (1) matrizes NP (*normal protein*), o qual recebeu uma dieta proteica normal (20,5% de proteína, Nuvital®, Curitiba / PR, Brasil) durante a lactação, e (2) matrizes LP (*low-protein*), alimentadas com dieta de baixa proteína (4% de proteína) durante os primeiros 14 dias de lactação. Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados e divididos em quatro grupos experimentais: (1) animais desnutridos na lactação que foram submetidos a exercício físico (grupo LP-EXE); (2) animais desnutridos durante a lactação que não fizeram o treinamento físico (grupo LP-SED); (3) animais não desnutridos na lactação e que foram submetidos ao exercício físico (NP-EXE); e (4) animais não desnutridos e que não fizeram exercício físico (NP-SED). Posteriormente, foram coletados parâmetros biométricos para a avaliação dos valores plasmáticos de glicose e aproximadamente 500mg dos tecidos adiposos marrom e retroperitoneal. Os resultados encontrados sugerem que a restrição dietética proteica somada à prática de exercício físico melhora o metabolismo do tecido adiposo marrom e controla a síndrome metabólica. Sendo assim, os filhotes de ratos Wistar apresentaram uma melhora metabólica a partir da diminuição do estoque de gordura corporal, o que pode potencialmente contribuir para a diminuição do desenvolvimento de patologias ligadas à dislipidemias, como por exemplo obesidade, hipertensão e diabetes.

PALAVRAS-CHAVE: Exercício físico; Restrição proteica; Programação metabólica.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial no número de distúrbios de ordem metabólica ao redor do mundo fez com que diversos pesquisadores buscassem por alternativas e respostas para tal fato. Dentre estes pesquisadores, o epidemiologista David Barker postulou que a hipótese do fenótipo econômico consiste na reprogramação do material genético, em fases precoces da vida, para uma melhor adaptação e desenvolvimento daquele indivíduo frente às condições ambientais adversas (ALMEIDA, 2015). Esta programação metabólica promove efeitos duradouros na vida dos indivíduos, sem causar alterações estruturais no material genético, pelo uso de fármacos, ambientes estressores, dietas restritivas, entre outros (LUCAS *et al.*, 1984).

Dentre as estratégias utilizadas para melhora dos parâmetros gerados pelos distúrbios metabólicos, o exercício físico se destaca. Isto porque possibilita melhor desempenho nutricional dos indivíduos, diminui a resistência à insulina, favorece a eliminação da glicose e o armazenamento de glicogênio muscular com a maior expressão de GLUT4, o que pode, por exemplo, melhorar quadros de diabetes mellitus. Ademais, estudos apontam que os benefícios da diferenciação do tecido adiposo branco para o marrom chamado de *browning*, comprovam que o exercício físico, quando aplicado de maneira correta, induz esta diferenciação potencializando os benefícios para a melhora clínica dos distúrbios metabólicos (CHENG *et al.*, 2021).



Assim, objetivou-se avaliar se o exercício físico, entre adolescência e a idade adulta, pode normalizar o metabolismo da glicose, alterado pela restrição proteica durante a lactação, pelo *browning* causado no tecido adiposo de ratos Wistar adultos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi desenvolvido de acordo com as normas do Comitê de Ética para Uso e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá, aprovado sob o número d e protocolo1376270418.

Ratos Wistar machos (n= 72) de 80 dias e fêmeas (n= 24) 70 dias foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e alojados no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção. Os animais ficaram sob condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo (12h claro, 12h escuro), com água e ração *ad libitum*. Ao nascer, todas as ninhadas foram ajustadas para oito filhotes por caixa, dando preferência a animais machos, e divididas em dois grupos experimentais: (1) o grupo de matrizes NP que receberam dieta proteica normal (20,5% de proteína, Nuvital®, Curitiba / PR, Brasil) durante a lactação; e (2) o grupo de matrizes alimentado com dieta de baixa proteína (4% de proteína, grupo LP) durante os primeiros 14 dias de lactação (PEIXOTO *et al.*, 2018). Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados, mantidos com cinco machos por caixa de polipropileno (45 cm / 30 cm / 15 cm) e divididos em quatro grupos experimentais: (1) animais desnutridos na lactação e que foram submetidos a exercício físico (grupo LP-EXE); (2) animais desnutridos durante a lactação que não fizeram o treinamento físico (grupo LP-SED); (3) animais não desnutridos na lactação e que foram submetidos ao exercício físico (NP-EXE); e (4) animais não desnutridos e que não fizeram exercício físico (NP-SED).

Durante o período de lactação (1-21 dias de vida), a evolução ponderal foi registrada semanalmente. Dos 21 aos 90 dias os animais foram pesados três vezes por semana. Após a eutanásia por decapitação e coleta de sangue total, os animais foram laparatomizados para a dissecação dos estoques de gordura periepídídima, retroperitoneal e mesentérica, os quais foram pesados. O peso de cada estoque de gordura foi expresso em relação ao peso corporal (PC) do respectivo animal (g/100g PC).

Aproximadamente 500 mg dos tecidos adiposos marrom foram coletados e fixados em paraformaldeído 4% por 24 horas. Após fixação, o tecido foi lavado, em água corrente por 24 horas e desidratado em concentrações ascendentes de álcool, diafanizado em xilol e em seguida, embebido em parafina histológica. Então, foram realizados cortes de 5 μm e os tecidos foram corados pela técnica convencional de Hematoxilina e Eosina para verificar o *browning* pelo método estimativo de Cavaleiri (VARZANDI *et al.*, 2018).

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. A análise estatística foi realizada utilizando o teste t de Student ou análise de variância (ANOVA TWO WAY), seguido de pós teste Tukey. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo no efeito de dieta pobre em proteínas (LP), exercício físico (EXE) ou sua interação (I), dietas pobres em proteínas e exercício físico. As análises foram realizadas através do programa GraphPad Prism®, versão 6.01, por Windows (GraphPad Prism® Software, San Diego California USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES



Em relação à evolução do peso corporal, os animais do grupo LP ($310,5 \pm 31,97$) apresentaram redução do ganho de peso corporal durante a lactação de 50,26% em relação ao grupo NP ($642,2 \pm 11,13$), conforme demonstrado pela AAC ($P < 0,0001$). Dos 21 aos 90 dias de vida, os animais do grupo LPSD apresentaram redução no ganho de peso corporal de 27,59% quando comparados aos animais do grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo LPEX apresentaram redução no ganho de peso corporal de 29,51% quando comparados aos animais do grupo NPEX ($P < 0,0001$). Em relação ao consumo alimentar, os animais do grupo LPSD apresentaram porcentagem 17,20% maior em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,001$). Os animais do grupo LPEX apresentaram 20,88% do consumo alimentar maior que os animais do grupo NPEX ($P < 0,001$). O exercício físico não modificou o consumo alimentar entre os grupos. O tipo de dieta apresentou significância de $P < 0,0001$ entre os grupos. Contudo, não houve interação entre estes fatores. No peso corporal final, os animais do grupo LPSD apresentaram um peso corporal final 26,69% menor em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo NPEX apresentaram diferença estatística em relação aos animais do grupo NPSD. Os animais do grupo LPEX apresentaram 24,51% do peso corporal final menor que os animais do grupo NPEX ($P < 0,0001$). O exercício físico modificou o consumo alimentar entre os grupos. O tipo de dieta apresentou significância de $P < 0,0001$ entre os grupos. Houve interação entre os fatores.

Em relação à gordura retroperitoneal, os animais do grupo LPSD apresentaram redução de 39,13% em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo NPEX apresentaram uma redução de 31,09% em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,001$). Os animais do grupo LPEX apresentaram redução de 23,85% em relação aos animais do grupo LPSD ($P < 0,05$). Os animais do grupo LPSD apresentaram redução de 39,13% em relação aos animais do grupo NPSD ($1,219 \pm 0,065$) ($P < 0,0001$). Os animais do grupo LPEX apresentaram redução de 32,74% em relação aos animais do grupo NPEX. O tipo de dieta e o exercício físico apresentaram significância estatística entre os grupos ($P < 0,0001$). Ambos os fatores apresentam interação ($P < 0,05$). Em relação ao estoque de gordura perigonadal, os animais do grupo LPSD apresentaram uma redução de 17,03% em relação ao grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo NPEX apresentaram uma redução de 17,03% em relação ao grupo NPSD ($P < 0,05$). Os animais do grupo LPEX não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo LPSD. Os animais do grupo LPEX obtiveram uma redução de 27,72% em relação ao grupo NPEX ($P < 0,01$). O tipo de dieta e o exercício físico apresentaram significância estatística entre os grupos ($P < 0,0001$ e $P < 0,05$, respectivamente). Ambos os fatores não apresentaram interação. Em relação à gordura mesentérica, os animais do grupo LPSD apresentaram uma redução de 31,28% em relação ao grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo NPEX apresentaram uma redução de 29,75% em relação ao grupo NPSD ($P < 0,0001$). O tipo de dieta e o exercício físico apresentaram significância estatística entre os grupos ($P < 0,0001$). Ambos os fatores apresentam interação ($P < 0,05$). Ademais, a dieta não apresentou relevância estatística; enquanto o exercício físico apresentou relevância na análise estatística dos grupos ($P < 0,05$), sem interação entre ambos os fatores.

Quanto ao número de células do TAM, os animais do grupo LPSD apresentaram um número de células do TAM 8,79% maior em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,01$). Os animais do grupo LPEX não apresentaram diferença estatística em relação aos animais do grupo LPSD. Os animais do grupo LPEX apresentaram 12,24% do número de células do TAM maior que os animais do grupo NPEX ($P < 0,01$). O exercício físico modificou o consumo alimentar entre os grupos. O tipo de dieta não apresentou significância entre os grupos. Por fim, não houve interação entre estes fatores. Em relação a área dos adipócitos, os animais do grupo LPSD apresentaram área dos



adipócitos 0,16% maior em relação aos animais do grupo NPSD ($P < 0,01$). Os animais do grupo NPEX apresentaram diferença estatística em relação aos animais do grupo NPSD. Os animais do grupo LPEX apresentaram diferença estatística em relação aos animais do grupo LPSD. Os animais do grupo LPEX apresentaram 0,67% da área dos adipócitos menor que os animais do grupo NPEX ($P < 0,05$). O exercício físico modificou o consumo alimentar entre os grupos. O tipo de dieta não apresentou significância entre os grupos. Contudo, houve interação entre estes fatores.

Em relação à velocidade máxima inicial, os animais do grupo LP obtiveram um desempenho de 15,05% maior em relação ao grupo NP ($P < 0,05$). Já em relação a velocidade máxima final, os animais do grupo LPSD obtiveram um aumento de 40,54% em relação ao grupo NPSD ($P < 0,0001$). Os animais do grupo NPEX obtiveram uma velocidade 35,72% maior em relação ao grupo NPSD ($P < 0,05$). Os animais do grupo LPEX apresentaram um aumento de 18,43% em relação ao grupo LPSD. Os animais do grupo LPEX apresentaram um aumento de 24,53% em relação ao grupo NPEX ($P < 0,01$). O tipo de dieta e o exercício físico apresentaram significância estatística entre os grupos ($P < 0,0001$ e $P < 0,001$, respectivamente). Contudo, ambos os fatores não apresentaram interação.

Neste estudo conseguimos avaliar os efeitos na programação metabólica de ratos *Wistar* com restrição dietética proteica com prática de exercício físico analisando a sua melhora metabólica e Browning do tecido adiposo com o treinamento proposto. Sendo assim, a partir da análise da evolução corporal é possível constatar que dietas com menor proporção de proteínas ajudam a controlar a síndrome metabólica (SM) e seus principais sintomas como, obesidade, hipertensão e diabetes (MORI, 2017). Diminuir o consumo de proteínas atinge os mesmos resultados de uma dieta com restrição calórica, entretanto sem a redução no número de calorias ingeridas no dia. Assim, esta seria uma boa estratégia para indivíduos que possuem SM (FONSECA, 2006). Juntamente à atividade física esta dieta promove a modulação do controle do apetite, melhorando, dessa forma, a sensibilidade do sistema de sinalização fisiológica da saciedade (ALBUQUERQUE, 2018). Além disso, animais alimentados com dieta hipoproteica apresentaram aumento dos níveis séricos de adiponectina para preservação da homeostase da glicose (CEOLIN, 2019). Assim, é possível sugerirmos que quanto menor a ingestão de glicose, menor a estocagem de tecido adiposo no organismo. Ademais, o exercício induz ainda o *browning* do tecido adiposo branco (TAB) pelo aumento do hormônio irisina, que é secretada do músculo esquelético para a circulação, atingindo o tecido adiposo branco e promovendo o recrutamento de adipócitos marrons através da sinalização da proteína quinase ativada por mitógeno (P38) e da quinase associada ao sinal extracelular. Assim, o exercício leva à regulação positiva da irisina, que é um hormônio importante para o escurecimento do TAB e a melhora do metabolismo energético (CHENG, 2021; MU, 2022).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que os filhotes de ratos *Wistar* que sofreram restrição proteica em sua dieta e praticaram exercício físico obtiveram um melhor resultado em sua programação metabólica. Estas condições propiciaram o *browning* do tecido adiposo, que resultou em uma melhora metabólica significativa; promovendo a diminuição do armazenamento de gordura corporal e consequente diminuição de patologias ligadas a dislipidemias.

REFERÊNCIAS



A, Lucas; GORE, S. M.; COLE, T. J.; BAMFORD, M. F.; DOSSETOR, J. F.; BARR, I.; DICARLO, L.; CORK, S.; LUCAS, P. J. Multicentre trial on feeding low birthweight infants: effects of diet on early growth. **Archives Of Disease In Childhood**, [S. l.], v. 59, n. 8, p. 722-730, 1 ago. 1984. BMJ.

ALMEIDA, Carlos Alberto Nogueira de. **Influência da nutrição sobre a programação metabólica: programação metabólica e obesidade**. Nestlé Nutrition Institute, Rio de Janeiro, out. 2015.

CHENG, Long; WANG, Jingkan; DAI, Hongyu; DUAN, Yuhui; AN, Yongcheng; SHI, Lu; LV, Yinglan; LI, Huimin; WANG, Chen; MA, Quantao. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. **Adipocyte**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 48-65, 1 jan. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21623945.2020.1870060>.

CEOLIN, Patrícia; FRANÇA, Suélem A. de; FROELICH, Mendalli; SANTOS, Maísa P. dos; PEREIRA, Mayara P.; QUEIROZ, Thaís S.; SILVA, Flávia H.s. da; LISBOA, Patrícia C.; ANDRADE, Claudia M.B.; BAVIERA, Amanda M. A low-protein, high carbohydrate diet induces increase in serum adiponectin and preserves glucose homeostasis in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 91, n. 2, 2019. FapUNIFESP (SciELO). Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920180452>.

FONSECA-ALANIZ, Miriam H.; TAKADA, Julie; ALONSO-VALE, Maria Isabel C.; LIMA, Fabio Bessa. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 216-229, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302006000200008>.

MU, Wang-Jing; ZHU, Jie-Ying; CHEN, Min; GUO, Liang. Exercise-Mediated Browning of White Adipose Tissue: its significance, mechanism and effectiveness. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 21, p. 11512, 26 out. 2021. MDPI AG. Doi: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms222111512>.

VARZANDI, Tarlan; ABDOLLAHIFAR, Mahammad Amin; ROHANI, Seyed Ali Haeri; PIRYAEI, Abbas; ZADEH-VAKILI, Azita; JEDDI, Sajad; GHASEMI, Asghar. Effect of long-term nitrite administration on browning of white adipose tissue in type 2 diabetic rats: a stereological study. **Life Sciences**, [S. l.], v. 207, p. 219-226, ago. 2018. Elsevier BV. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2018.06.012>.