


# IMUNOMETABOLISMO TECIDUAL HEPÁTICO E MUSCULAR ESQUELÉTICO DE RATOS TREINADOS

HEPATIC AND SKELETAL MUSCLE TISSUE IMMUNOMETABOLISM IN TRAINED RATS

INMUNOMETABOLISMO DEL TEJIDO HEPÁTICO Y MUSCULAR ESQUELÉTICO DE RATAS ENTRENADAS

ARTIGO ORIGINAL  
ORIGINAL ARTICLE  
ARTÍCULO ORIGINAL

Alan José Barbosa Magalhães<sup>1</sup> 


(Fisioterapeuta)

José Carlos Silva Camargo Filho<sup>2</sup> 


(Fisioterapeuta)

José Ricardo Lenzi Mariolani<sup>3</sup> 


(Engenheiro Mecânico)

Regina Celi Trindade Camargo<sup>2</sup> 

(Fisioterapeuta)

Sergio Minoru Oikawa<sup>4</sup> 

(Matemático)

William Dias Belangero<sup>3</sup> 

(Médico)

1. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Cirurgia, Campinas, SP, Brasil.

2. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Presidente Prudente), Departamento de Fisioterapia, Presidente Prudente, SP, Brasil.

3. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP, Brasil.

4. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Presidente Prudente), Departamento de Estatística, Presidente Prudente, SP, Brasil.

## Correspondência:

Alan José Barbosa Magalhães  
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas. Av. Getúlio Vargas, 1200, Vila Nova Santana, Assis, SP, Brasil. 19807-130.

ajb\_magalhaes@yahoo.com.br

## RESUMO

**Introdução:** O exercício físico pode se apresentar como uma alternativa para prevenção e tratamento de efeitos deletérios da obesidade, principalmente efeitos inflamatórios sobre os tecidos muscular esquelético e hepático. No entanto, não há consenso quanto ao melhor modelo de treinamento físico para tal finalidade. **Objetivos:** Avaliar alterações morfológicas, metabólicas e inflamatórias dos treinamentos aeróbico e resistido sobre os tecidos muscular esquelético e hepático de ratos. **Métodos:** 24 ratos Wistar foram divididos nos grupos sedentário (S), treinamento aeróbico (AE) e resistido (R). Glicemia, colesterol total e triglicérides séricos foram mensurados periodicamente. Após a eutanásia, a massa corporal foi mensurada para calcular o ganho total de massa durante o experimento. A lipoproteína de alta densidade (HDL) foi dosada. O tecido adiposo foi extraído para cálculo de sua porcentagem relativa à massa corporal assim como o fígado e os músculos sóleo e gastrocnêmio para as análises morfológicas e das concentrações de glicogênio, lipídios e Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Para análise estatística, foram utilizados o teste de Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn, adotando-se  $p < 0,05$ . **Resultados:** Ambos os modelos de treinamento reduziram o percentual de tecido adiposo, ganho de massa corporal e concentração hepática de TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ). AE aumentou o HDL sérico, o diâmetro das fibras do gastrocnêmio e reduziu a dimensão fractal no sóleo ( $p < 0,05$ ). R reduziu a glicemia e os lipídios séricos e hepáticos, aumentou a concentração de glicogênio hepático e sóleo, aumentou o diâmetro das fibras gastrocnêmicas e diminuiu o TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ). **Conclusão:** Ambos os modelos de treinamento reduziram a massa corporal, o tecido adiposo visceral relativo, a concentração sérica de colesterol total e a inflamação hepática. No entanto, o treinamento resistido mostrou-se mais eficaz em promover efeitos metabólicos no fígado e no músculo esquelético, além de reduzir a inflamação muscular em ratos. **Nível de Evidência V; Opinião do Especialista.**

**Descritores:** Treinamento de Resistência; Fígado; Músculo Esquelético; Fator de Necrose Tumoral alfa.

## ABSTRACT

**Introduction:** Physical exercise can be an alternative for preventing and treating the harmful effects of obesity, mainly inflammatory effects on skeletal muscle and liver tissues. However, no consensus exists regarding this purpose's best physical training model. **Objective:** Evaluate morphological, metabolic, and inflammatory alterations in rats' skeletal and hepatic muscle tissues caused by aerobic and resistance training. **Methods:** 24 Wistar rats were divided into sedentary (S), aerobic (AE), and resistance training (R) groups. Blood glucose, total cholesterol, and serum triglycerides were measured periodically. After euthanasia, body mass was measured to calculate the total mass gain during the experiment. High-density lipoprotein (HDL) was measured. Adipose tissue was extracted to calculate its percentage relative to body mass and the liver, soleus, and gastrocnemius muscles for morphological analyses and concentrations of glycogen, lipids, and Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). The Kruskal-Wallis test and Dunn's post-test were performed for statistical analysis, adopting  $p < 0.05$ . **Results:** Both training models reduced the percentage of adipose tissue, body mass gain, and hepatic TNF- $\alpha$  concentration ( $p < 0.05$ ). AE increased serum HDL, gastrocnemius fiber diameter and reduced the fractal dimension in the soleus ( $p < 0.05$ ). R reduced blood glucose and serum and liver lipids, increased liver and soleus glycogen concentrations, increased gastrocnemius fiber diameter, and decreased TNF- $\alpha$  ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Both training models reduced body mass, relative visceral adipose tissue, serum total cholesterol concentration, and liver inflammation. However, resistance training was more effective in promoting metabolic effects in the liver and skeletal muscle and reducing muscle inflammation in rats. **Level of Evidence V; Expert Opinion.**

**Keywords:** Resistance Training; Liver; Muscle, Skeletal; Tumor Necrosis Factor-alpha.

## RESUMEN

**Introducción:** El ejercicio físico puede ser una alternativa para prevenir y tratar los efectos nocivos de la obesidad, principalmente los efectos inflamatorios sobre los tejidos del músculo esquelético y del hígado. Sin embargo, no existe consenso sobre cuál es el mejor modelo de entrenamiento físico para este fin. **Objetivo:** Evaluar las alteraciones morfológicas, metabólicas e inflamatorias del entrenamiento aeróbico y de resistencia en sobre los tejidos músculo esqueléticos y hepáticos de ratas. **Métodos:** 24 ratas Wistar se dividieron en grupos sedentarios (S), aeróbicos (AE) y de entrenamiento de resistencia (R). Se midieron periódicamente glucosa en sangre, colesterol total y triglicéridos. Después de la eutanásia, se midió la masa corporal



para calcular la ganancia de masa total durante el experimento. Se midió la lipoproteína de alta densidad (HDL). Se extrajo tejido adiposo para calcular su porcentaje relativo a la masa corporal, así como hígado, músculos sóleo y gastrocnemio para análisis morfológicos y concentraciones de glucógeno, lípidos y Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Para el análisis estadístico fueron utilizados Kruskal-Wallis y el post-test de Dunn, adoptando  $p < 0,05$ . Resultados: Ambos entrenamientos redujeron el porcentaje de tejido adiposo, masa corporal y la concentración de TNF- $\alpha$  hepático ( $p < 0,05$ ). AE aumentó el HDL sérico, el diámetro de la fibra del gastrocnemio y redujo la dimensión fractal en el sóleo ( $p < 0,05$ ). R redujo la glucosa en sangre y los lípidos séricos y hepáticos, aumentó las concentraciones de glucógeno hepático y sóleo, aumentó el diámetro de la fibra del gastrocnemio y disminuyó el TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ). Conclusión: Ambos modelos de entrenamiento redujeron la masa corporal, el tejido adiposo visceral relativo, la concentración sérica de colesterol total y la inflamación hepática. El entrenamiento de resistencia demostró ser más eficaz para promover los efectos metabólicos en el hígado y el músculo esquelético, además de reducir la inflamación muscular en ratas. **Nivel de Evidencia V; Opinión del Especialista.**

**Descriptor:** Entrenamiento de Resistencia; Hígado; Músculo Esquelético; Factor de Necrosis Tumoral alfa.

DOI: [http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202430022023\\_0219p](http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202430022023_0219p)

Artigo recebido em 28/03/2023 aprovado em 08/08/2023

## INTRODUÇÃO

O comportamento sedentário ainda é um tema muito discutido, tendo em vista suas consequências progressivas e com sinais e sintomas silenciosos. O sedentarismo possui um padrão retroalimentado positivamente, no qual a redução da capacidade física resulta em desconforto físico e emocional durante sua prática, o que pode desmotivar realização.<sup>1</sup>

Como consequência, ocorre o acúmulo de gordura corporal, gerado pelo desequilíbrio entre ingestão calórica e gasto energético. Este aumento pode acarretar outras situações patológicas como a síndrome metabólica. Além disso, adipócitos hipertrofiados sofrem hipóxia e secretam Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), responsável pelo surgimento de doenças crônicas.<sup>2</sup>

No entanto, o treinamento físico pode ser uma alternativa não farmacológica eficaz contra esses efeitos deletérios. Tanto a prática do treinamento aeróbico como o resistido podem reduzir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas,<sup>3,4</sup> pois a contração muscular estimula a produção de Interleucina 10 e reduz a secreção de TNF- $\alpha$ .<sup>5,6</sup>

No entanto, não está claro qual tipo de treinamento é mais indicado para reduzir os efeitos do sedentarismo, assim como se o efeito anti-inflamatório promovido ocorre de maneira similar nos tecidos muscular esquelético e hepático. Logo, o presente estudo avaliou quais alterações morfológicas, metabólicas e inflamatórias dos treinamentos aeróbico e resistido promoveram sobre o tecido muscular esquelético e hepático de ratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

Foram obtidos 24 ratos machos Wistar com sete semanas de idade, mantidos no Biotério II da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (FCT/UNESP), campus de Presidente Prudente. A pesquisa foi desenvolvida obedecendo às normas e aos princípios éticos de experimentação animal do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCT/UNESP, sob protocolo nº 003/2016.

### Grupos experimentais

Os animais foram divididos nos grupos sedentário (S), aeróbico (AE) e resistido (R) e alimentados com ração para roedores da marca SupraLab®, da Alisul® (São Leopoldo, Brasil), com composição de 48g de carboidratos, 25g de proteínas, 3g de lipídios e 24g de fibras e minerais para cada 100 gramas, totalizando 2,95 quilocalorias por grama (Kcal/g). Para hidratação foi oferecida água de torneira *ad libitum*.

### Protocolos de treinamento

#### Protocolo para o grupo sedentário

O grupo S permaneceu todo o período experimental dentro da gaiola, sem a realização de treinamento físico experimental.

### Protocolo de treinamento aeróbico

Para familiarização ao treinamento aeróbico, os animais caminharam na esteira ergométrica Inbramed® por 30 minutos, uma vez ao dia, por seis dias consecutivos, de acordo com o método proposto por Lira et al.<sup>7</sup> Após o período de familiarização, a prescrição das cargas utilizadas no treinamento aeróbico foi definida pelo Teste de Velocidade Máxima ( $V_{max}$ ), utilizando os métodos de Faleiros et al.<sup>8</sup>

Em seguida foi iniciado o período de treinamento, no qual os animais realizaram corrida em esteira ergométrica com duração de 60 minutos, uma vez ao dia, cinco vezes por semana, durante 12 semanas, seguindo o modelo proposto por Lira et al.<sup>7</sup>

### Protocolo de treinamento resistido

O treinamento resistido foi realizado em meio aquático. Para tal, foi adaptado um recipiente cilíndrico de plástico com 50 cm de altura e 25 cm de diâmetro. O recipiente foi preenchido com água em temperatura média de  $30 \pm 2$  °C, até atingir 38 cm de profundidade. A carga de trabalho foi acomodada na região posterior do tórax por meio de um colete especial, permitindo saltos verticais até a superfície do recipiente. O período de familiarização foi realizado mediante ao proposto por Teixeira et al.<sup>9</sup>

Após o período de familiarização, foi iniciado o protocolo de treinamento resistido, composto de quatro séries de 10 saltos, com intervalo de 60 segundos entre as séries, três vezes por semana, por 12 semanas, seguindo modelo utilizado por Teixeira et al.<sup>9</sup>

### Avaliação periódica

Os animais foram periodicamente avaliados para dosar a glicemia e o perfil lipídico durante o período experimental, iniciando-se uma semana antes do início nos períodos pré-treinamento, 8ª e na 13ª semana do período experimental.

### Análise da resposta glicêmica durante o período experimental

Amostras sanguíneas de 25  $\mu$ l foram coletadas da extremidade distal da cauda dos animais, para análise por fotometria utilizando o monitor digital Accu-Check Active® (Roche Diagnosis®, Basileia, Suíça). No período pré-treinamento, foi coletada apenas a glicemia de repouso dos animais de todos os grupos. Na 13ª semana, foi realizado o Teste de Glicemia com os animais de todos os grupos, como proposto por Oliveira et al.<sup>10</sup>

### Análise do perfil lipídico durante o período experimental

A avaliação do perfil lipídico foi realizada no período pré-treinamento, na 8ª semana de treinamento e na 13ª semana. Novas amostras sanguíneas de 25  $\mu$ l foram coletadas da extremidade distal da cauda dos animais para análise por fotometria do colesterol total e triglicérides, utilizando o monitor Accutrend Plus®, da Roche Diagnostics® (Basileia, Suíça). Este monitor mensurou o valor de triglicérides a partir de 69 mg/dl e de colesterol total a partir de 149 mg/dl. Assim, os valores de colesterol total

foram categorizados como maiores ou menores do que 149 mg/dl. Já os valores dos triglicerídeos foram apresentados em números absolutos.<sup>11</sup>

## Eutanásia

A massa corporal foi determinada por balança analítica da marca Ohaus®, para calcular o ganho de massa dos animais durante o período experimental (Massa Inicial – Massa Final = Ganho de Massa Corporal). A anestesia e eutanásia dos animais foi realizada seguindo os métodos de Lira et al.<sup>7</sup> Foram coletadas 10ml de amostra sanguínea para dosagem do colesterol do tipo Lipoproteína de Alta Densidade (HDL). Uma incisão paramedial no abdome foi realizada, com rebatimento do epitélio para coleta dos tecidos adiposos epididimal, mesentérico e retroperitoneal e do fígado. Outra incisão foi realizada na face lateral da região tibial do membro inferior, para coleta dos músculos sóleo e gastrocnêmio.<sup>12</sup>

## Variáveis suplementares ao perfil lipídico

### Mensuração do tecido adiposo relativo

Os tecidos adiposos epididimal, mesentérico e retroperitoneal foram pesados juntos em balança de precisão e foi calculado o percentual relativo à massa corporal do animal (%).<sup>13</sup>

### Dosagem do colesterol HDL

As amostras sanguíneas foram utilizadas para dosagem do colesterol HDL por métodos enzimáticos (CENTERKIT®, São Paulo, Brasil), e leitura da densidade colorimétrica utilizando o espectrofotômetro 1600UV®, da marca BUNKER® (Piracicaba, Brasil), com comprimento de onda de 600nm.<sup>7</sup>

### Preparo histológico e análise estereológica do tecido hepático

O preparo histológico do tecido hepático foi realizado utilizando os métodos de Magalhães et al.<sup>13</sup> Todas as imagens para análise histológica foram obtidas por meio de um microscópio óptico Nikon® 50i (Nova Iorque, Estados Unidos), com acoplamento de câmera digital Nikon® Infinity 1 (Nova Iorque, Estados Unidos).

Para a análise estereológica, foram utilizadas 10 imagens por animal com aumento de 400x e coloração por Hematoxilina e Eosina (HE). Foi utilizado o software ImageJ® 1.47t for Windows® (National Institute of Health – Maryland, Estados Unidos) para aplicar o teste multiuso de 144 pontos preconizado por Weibel.<sup>14</sup> Utilizando os métodos de Catta-Preta et al.,<sup>15</sup> foram obtidas as porções relativas celular, nuclear, da matriz extracelular e a densidade numérica celular.

### Preparo histológico e análise morfométrica e da dimensão fractal do tecido muscular esquelético

Os músculos sóleo e gastrocnêmio passaram pelo preparo histológico preconizado por Camargo et al.<sup>12</sup> As lâminas histológicas do músculo sóleo foram coradas com HE,<sup>12</sup> PAS<sup>16</sup> e Sudam III.<sup>16</sup> Dentre as lâminas histológicas do músculo gastrocnêmio, uma amostra foi corada com HE e outra foi imunolocalizada com os anticorpos do TNF- $\alpha$ .

A análise morfológica foi realizada utilizando o software NIS-Elements D 3.0 – SP7 – build 547, Nikon® for Windows® (Nova Iorque, Estados Unidos). Nas imagens de amostras coradas com HE e aumento de 100x, foi mensurado o menor diâmetro de 100 fibras dos músculos sóleo e gastrocnêmio de cada animal.<sup>12</sup>

Para análise da Dimensão Fractal dos músculos sóleo e gastrocnêmio foi utilizado o software ImageJ® 1.47t for Windows® (National Institute of Health – Maryland, Estados Unidos), utilizando dos sistemas propostos por Moreira et al.<sup>17</sup> e Ozaki et al.<sup>18</sup>

## Quantificação da concentração de glicogênio, lipídios e TNF- $\alpha$ nos tecidos hepático e muscular esquelético

Para avaliar a concentração tecidual de glicogênio foi utilizado Ácido Periódico de Schiff (PAS)<sup>16</sup> para e a coloração Sudam III<sup>19</sup> foi utilizada para a concentração de lipídios. Além disso, foi realizada a imunolocalização do anticorpo Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ).

Nestas análises foram utilizadas imagens com aumento de 20x para amostras do tecido muscular esquelético e aumento de 40x para o tecido hepático, utilizando o software ImageJ® 1.47t for Windows® (National Institute of Health – Maryland, Estados Unidos), pelo método proposto por Da Rocha et al.<sup>19</sup>

## Análise Estatística

Foi utilizado o Dimensionamento Amostral para calcular o número mínimo de animais necessários, que resultou em oito animais por grupo<sup>20</sup> e o Delineamento em Blocos Casualizados em Esquema Fatorial para aleatorização dos animais.<sup>20</sup> A prevalência de colesterol total foi definida pelo Teste de Wilcoxon.<sup>20</sup> Para verificar a normalidade dos dados foi utilizado o Teste de Shapiro-Wilk e a análise estatística foi feita com o Teste de Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn,<sup>20</sup> adotando  $p < 0,05$  e com o software IBM SPSS 22.0®.

## RESULTADOS

Na Tabela 1 observa-se que não houve diferença significativa na massa corporal inicial (g) e final (g) entre os grupos, mas nota-se redução de massa corporal dos grupos AE ( $p=0,009$ ) e R ( $p=0,001$ ) comparados ao S durante o período experimental. A dosagem sérica de triglicerídeos do grupo R foi menor comparado a S na 13ª semana ( $p=0,025$ ), sem diferença significativa nos demais períodos.

A massa de tecido adiposo (g) do grupo S foi maior comparado ao R ( $p=0,039$ ). Já o tecido adiposo relativo (%) do grupo S foi maior comparado ao AE ( $p=0,037$ ) e ao R ( $p=0,039$ ). Por fim, o grupo R apresentou menor concentração glicêmica em relação ao grupo S ( $p=0,044$ ) no final do teste (25º minuto).

Na Tabela 2 observa-se maior prevalência de colesterol total superior a 149 mg/dl no grupo S ( $p=0,034$ ). A dosagem sérica de colesterol HDL (mg/dl) do grupo AE foi maior comparado ao S ( $p=0,021$ ).

## Análise do tecido hepático

Na Tabela 3 os grupos AE e R apresentam menor densidade numérica de hepatócitos ( $p=0,001$  e  $p=0,028$ ), menor volume celular ( $p=0,001$ ) e

**Tabela 1.** Valores referentes à massa corporal (g), concentração sérica de triglicerídeos (TG, em mg/dl), massa (g) e percentual (%) de tecido adiposo e teste glicêmico após o experimento.

Variáveis (Med (IQ))	PS (n=8)	AE (n=7)	R (n=6)
Massa corporal inicial (g)	336,5 (29,37)	343,5 (28,00)	352,5 (66,12)
Massa corporal final (g)	474,2 (62,00)	463,5 (46,50)	434,0 (91,25)
Ganho de massa corporal (g)	156,5 (34,25)	124,0 (43,00) *	100,5 (65,50) *
TG pré-treinamento (mg/dl)	101,5 (27,25)	108,0 (41,00)	136,0 (31,50)
TG 8ª semana (mg/dl)	127,5 (23,50)	118,0 (60,50)	114,0 (32,50)
TG 13ª semana (mg/dl)	132,5 (26,50)	125,0 (69,50)	114,0 (32,50) *
Massa do tecido adiposo (g)	15,52 (5,08)	12,29 (4,55)	9,38 (6,51) *
Tecido adiposo relativo (%)	3,54 (0,81)	3,05 (0,83) *	2,48 (1,21) *
Glicemia de repouso (mg/dl)	89,00 (10,00)	116,00 (10,00)	132,00 (30,00)
Glicemia 5º min teste (mg/dl)	91,00 (4,00)	103,00 (24,00)	136,00 (48,00)
Glicemia 25º min teste (mg/dl)	90,00 (16,00)	102,00 (26,50)	108,00 (31,75) *

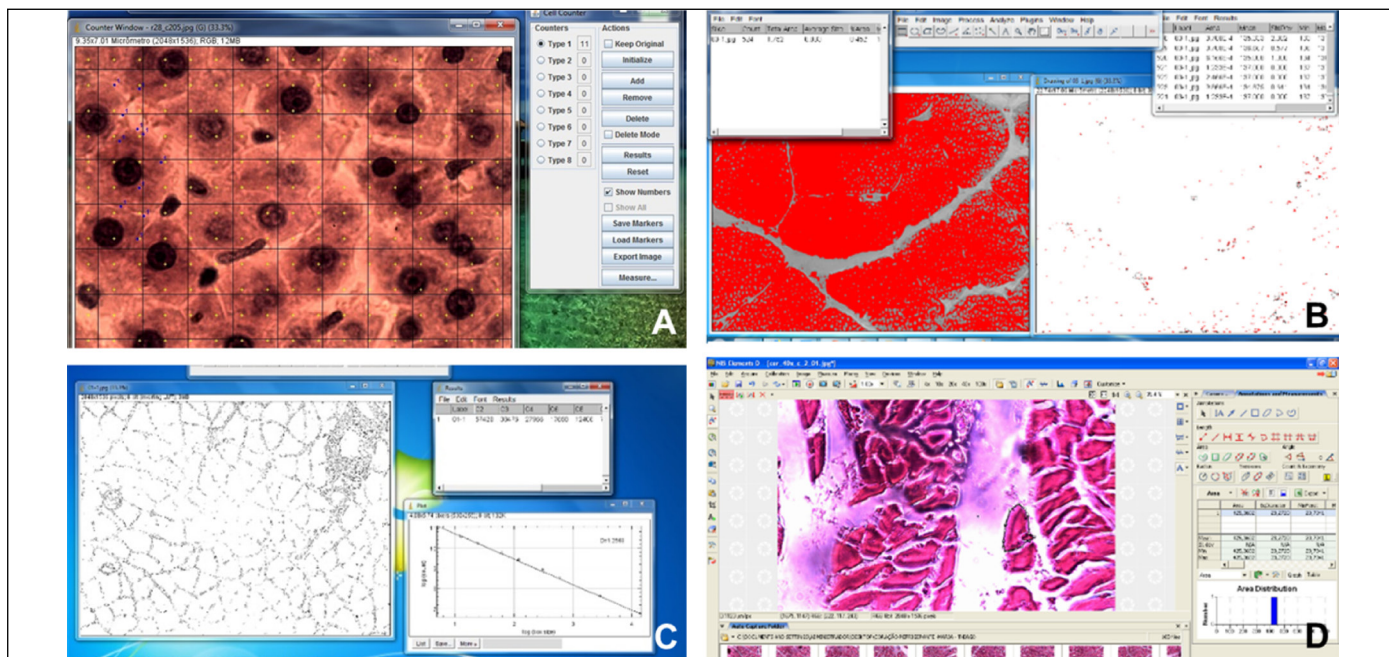
Legenda: S = Sedentário; AE = Aeróbico; R = Resistido; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil; TG = triglicerídeos. Teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn para a comparação dos resultados. \*  $p < 0,05$  comparado ao PS.

**Tabela 2.** Prevalência (%) de animais com colesterol total acima de 149 mg/dl durante o período experimental e valores de colesterol HDL (mg/dl) após a eutanásia.

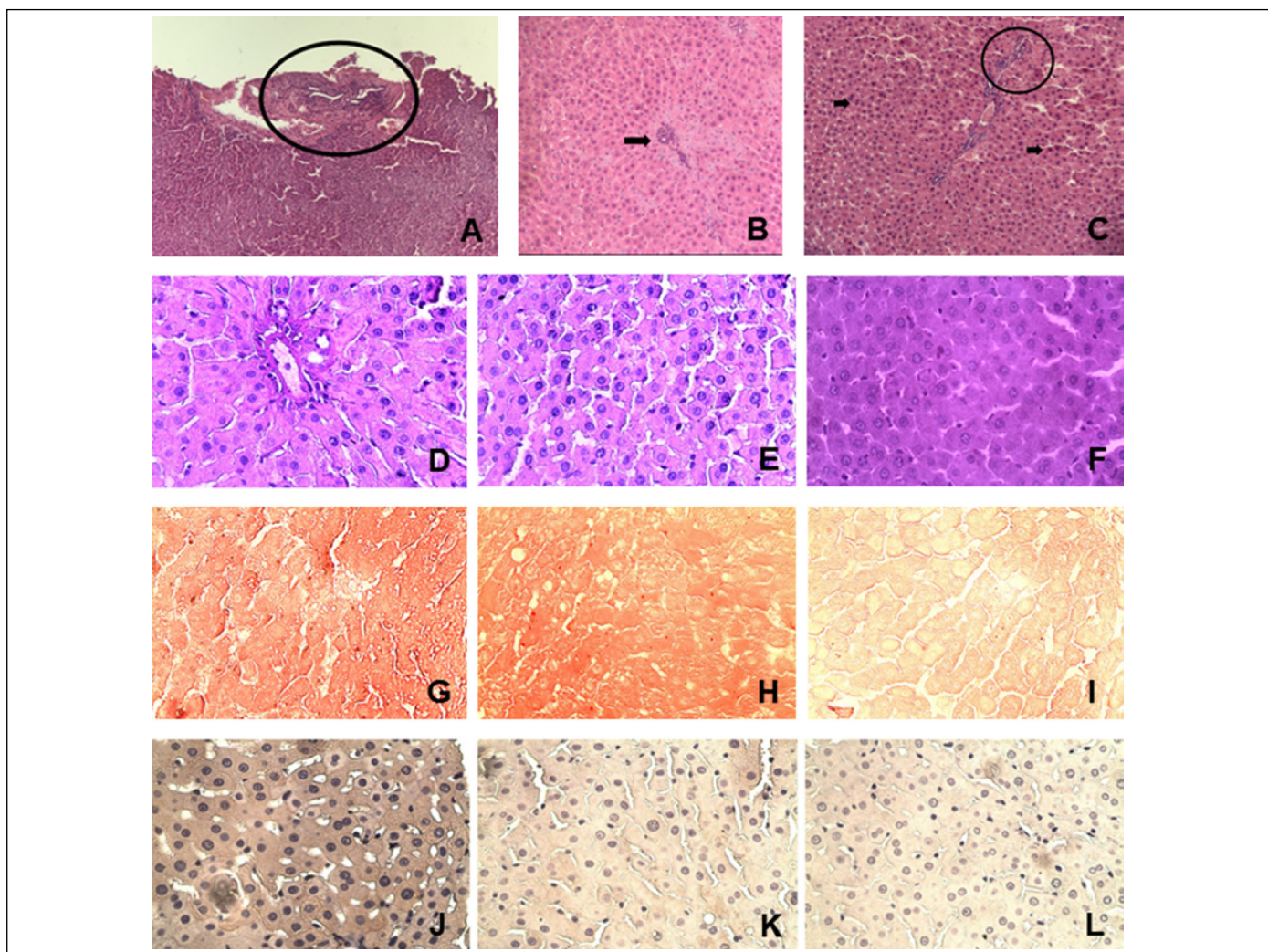
	Colesterol total (%)			HDL (Med (IQ))
	Pré-Treinamento	8ª Semana	13ª Semana	Pós-eutanásia
PS	50.0%	37.5%	87.5%*	35.36 (8.10)
PAE	42.9%	85.7%	14.3%	42.71 (8.09) *
PR	67.7%	33.3%	50.0%	42.97 (18.72)

Legenda: S = Sedentário; AE = Aeróbico; R = Resistido; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil. Teste de Wilcoxon para comparação dos resultados de colesterol total. Teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn para a comparação dos resultados de colesterol HDL. \*  $p < 0,05$  comparado ao PS.





**Figura 1.** Utilização dos softwares: A, B e C. ImageJ® 1.47t for Windows® para realização da análise estereológica, da estimativa de concentração de glicogênio, lipídios, IL-6 e TNF- $\alpha$  e análise da dimensão fractal nos tecidos hepático e muscular esquelético; D. NIS-Elements D 3.0 – SP7 – build 547, Nikon® for Windows® mensuração do menor diâmetro das fibras musculares. (Fonte: LAPMUS).



**Figura 2.** Fotomicrografias do tecido hepático: A. PS com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Aumento moderado de linfócitos em espaços porta (círculo) sem extravasamento de linfócitos, 200X; B. PAE, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Aumento discreto de linfócitos, sem alterações estruturais ou atividade (seta), 200X; C. PR, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Aumento moderado de linfócitos em espaços porta (círculo) com extravasamento de linfócitos e frequente hepatócitos binucleados, alguns apresentando núcleos picnóticos (setas). 200X; D. PS com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por PAS, 400X; E. PAE; F. PR; G. PS com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por Sudan III, 400X; H. PAE; I. PR; J. PS com espessura de 5 $\mu$ m e imunolocalizado pelo anticorpo TNF- $\alpha$ , 400X; K. PAE; L. PR.



**Tabela 3.** Valores da análise estereológica e concentrações (%) de glicogênio, lipídios e TNF- $\alpha$  do tecido hepático após o período experimental.

Variáveis (Med (IQ))	S (n=8)	AE (n=7)	R (n=6)
Massa do fígado (g)	11,69 (1,38)	12,70 (2,71)	10,46 (1,42)
Densidade numérica (n $^{\circ}$ / $\mu$ m $^3$ )	1,03 (0,05)	0,84 (0,26) *	0,87 (0,23) *
Volume celular (%)	84,72 (2,43)	79,16 (7,63) *	56,25 (10,06) *
Volume nuclear (%)	14,58 (5,20)	26,38 (12,84)	21,52 (9,37)
Volume de matriz extracelular (%)	15,27 (2,43)	20,83 (7,63) *	43,75 (10,06) *
Glicogênio (%)	27,70 (16,46)	38,49 (22,55)	47,53 (16,49) *
Lipídios (%)	54,62 (14,41)	51,74 (17,57)	38,55 (25,58) *
TNF- $\alpha$ (%)	40,53 (6,76)	22,44 (7,79) *	21,29 (16,11) *

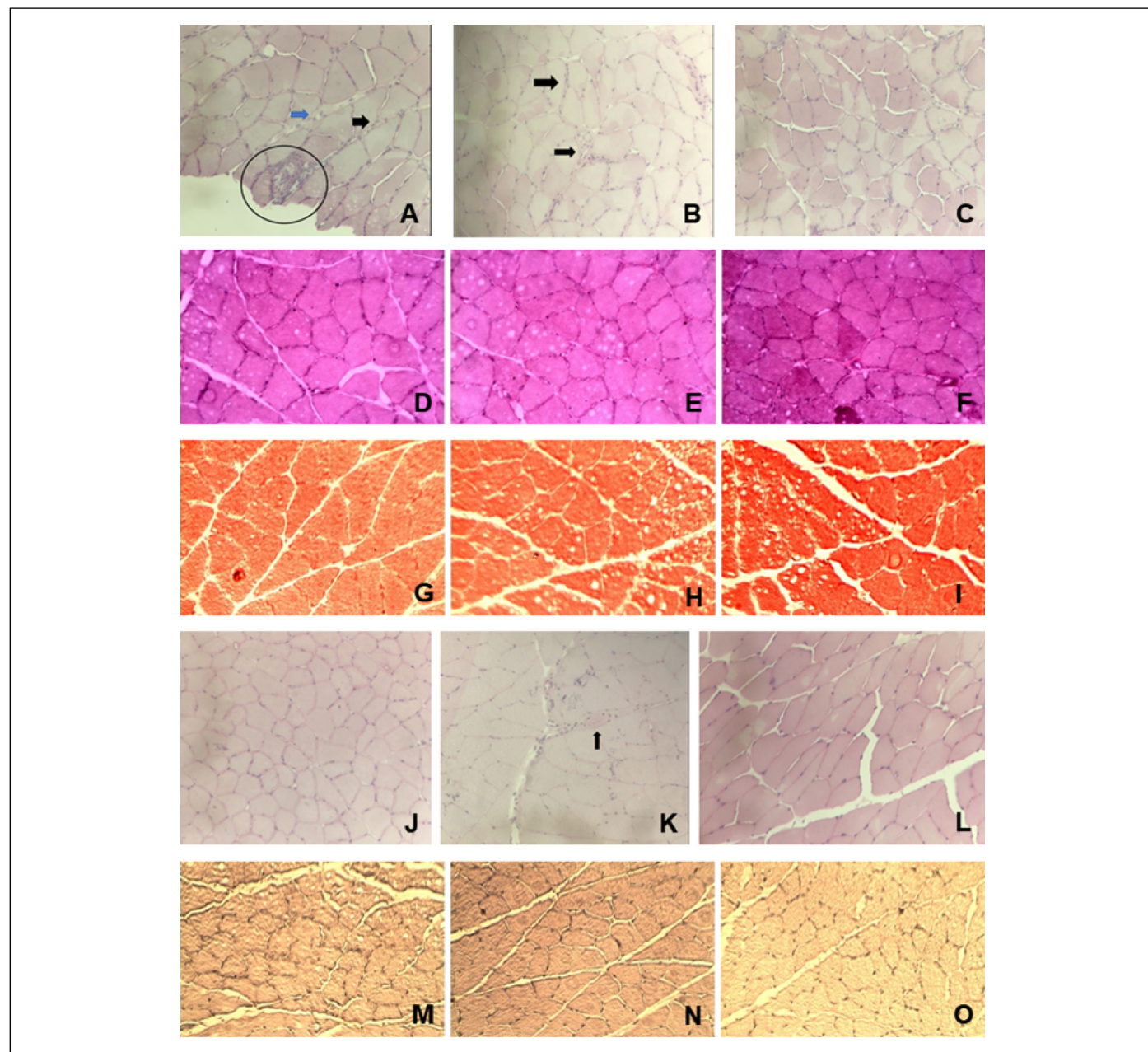
Legenda: S = Sedentário; AE = Aeróbico; R = Resistido; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil. Teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn para a comparação dos resultados. \* p<0,05 comparado ao S.

maior matriz extracelular (p=0,001) comparados ao S na análise estereológica, sem diferença significativa quanto a massa do fígado.

O grupo R apresentou maior concentração de glicogênio (p=0,001) e menor concentração de lipídios (p=0,003) comparado ao S. Além disso, houve menor concentração de TNF- $\alpha$  dos grupos AE e R (p=0,001) comparado ao S, sem diferença significativa na concentração de IL-6.

### Análise do tecido muscular esquelético

Na Tabela 4 não houve diferença na massa e no diâmetro das fibras do músculo sóleo, mas AE apresentou menor valor de dimensão fractal comparado a S e R (p=0,001). O grupo R apresentou maior concentração de glicogênio muscular comparado a AE (p=0,001), sem diferença significativa na concentração de lipídios entre os grupos.



**Figura 3.** Fotomicrografias do tecido muscular esquelético do sóleo: A. PS, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Espessamento do perimísio (seta azul) e do endomísio (seta preta) com infiltrado linfo-histiocitário agredindo célula a muscular (círculo), 200X; B. PAE, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Endomísio espessado focalmente e presença de discreto infiltrado inflamatório (setas), 200X; C. PR, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Não há alterações significativas no tecido, 200X. D. PS, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por PAS, 200X; E. PAE; F. PR; G. PS, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por Sudam III, 200X; H. PAE; I. PR; J. Fotomicrografia do tecido muscular esquelético do gastrocnêmio do subgrupo PS, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Não há alterações histológicas significativas. Células musculares esqueléticas poligonais isomorfas e com contornos perimisial e endomisial preservados, 200X; K. PAE, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Espessamento perimisial focal com raros linfócitos de permeio (seta), 200X; L. PR, com espessura de 5 $\mu$ m e coloração por HE. Não há alterações histológicas significativas. Células musculares esqueléticas poligonais isomorfas e com contornos perimisial e endomisial preservados, 200X; M. PS, com espessura de 5 $\mu$ m e imunolocalizado pelo anticorpo TNF- $\alpha$ , 200X; N. PAE; O. PR.

**Tabela 4.** Valores do menor diâmetro das fibras musculares ( $\mu\text{m}$ ), análise da dimensão fractal (UA) e concentrações (%) de glicogênio, lipídios e TNF- $\alpha$  dos músculos sóleo e gastrocnêmio após o período experimental.

Variáveis (Med (IQ))	S (n=8)	AE (n=7)	R (n=6)
Massa SL (g)	0,103 (0,02)	0,099 (0,01)	0,097 (0,01)
Massa GT (g)	0,610 (0,07)	0,568 (0,24)	0,655 (0,10)
Menor diâmetro SL ( $\mu\text{m}$ )	71,34 (9,89)	64,52 (6,56)	64,44 (9,88)
Menor diâmetro GT ( $\mu\text{m}$ )	55,06 (7,03)	70,05 (5,70) *	70,38 (11,66) *
DF SL (UA)	1,586 (0,06)	1,510 (0,11) * †	1,558 (0,07)
DF GT (UA)	1,664 (0,04)	1,532 (0,08)	1,565 (0,12) ***
Glicogênio SL (%)	47,55 (13,88)	34,08 (18,40)	57,57 (36,11) **
Lipídios SL (%)	68,30 (17,48)	64,23 (11,87)	75,19 (18,51)
TNF- $\alpha$ GT (%)	22,72 (13,95)	24,25 (9,76)	14,50 (10,33) ***

Legenda: S = Sedentário; AE = Aeróbico; R = Resistido; Med = Mediana; IQ = Intervalo Interquartil; DF = Dimensão fractal; SL = sóleo; GT = gastrocnêmio; UA = unidade arbitrária. Teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn para a comparação dos resultados. \*  $p < 0,05$  comparado ao S. \*\* AE. † R.

No músculo gastrocnêmio, não houve diferença na massa muscular entre os grupos, mas AE ( $p=0,001$ ) e R ( $p=0,003$ ) apresentaram maior diâmetro das fibras musculares comparado ao S. O grupo R apresentou menor valor de dimensão fractal comparado a S e AE ( $p=0,001$ ). Não houve diferença quanto a concentração de IL-6, mas R apresentou menor concentração de TNF- $\alpha$  comparado a S e AE ( $p=0,001$ ).

## DISCUSSÃO

O grupo AE apresentou menor concentração colesterol total e maior concentração de HDL comparado ao grupo S. Segundo Rahmati-Ahmadabad et al.,<sup>21</sup> o treinamento aeróbico aumenta a formação de HDL pelo aumento da expressão hepática de Transportadores de Lipídio Intracelular ATP-binding cassette 1 (ABC1), aumentando o transporte de colesterol total e reduzindo sua concentração sérica.

Além disso, a redução do tecido adiposo visceral e da massa corporal do grupo AE comparado ao S pode ser apoiado pelo estado pró-oxidativo transitório no tecido adiposo branco após o treinamento, favorecendo o aumento da lipólise e a redução da lipogênese nos adipócitos.<sup>22</sup>

O aumento do depósito de glicogênio hepático e muscular e menor concentração glicêmica apresentado por R em relação ao S pode ter ocorrido pelo aumento na sensibilidade à insulina, que resulta na absorção e na glicólise celular após o treinamento.<sup>23</sup>

Em paralelo houve redução da massa corporal, do tecido adiposo visceral da concentrações hepática de lipídios e séricas de triglicerídeos e colesterol total, no grupo R. Domingos et al.,<sup>24</sup> que observaram que o treinamento resistido reduz a expressão hepática de SREBP1c e de Esteroil-CoA-Dessaturase 1 (SDC-1). Dessa forma, ocorre neoglicogênese pós-treino a partir de ácidos graxos livres,<sup>23</sup> o que reduz a lipogênese hepática, aumenta a lipólise em adipócitos e reduz a concentração sérica de triglicerídeos.<sup>24</sup>

A maior concentração de TNF- $\alpha$  e os valores estereológicos do grupo S comparado aos grupos AE e PR sugerem processo inflamatório e alterações teciduais decorrentes do sedentarismo.<sup>23-27</sup> Estudos prévios<sup>3,4</sup>

observaram redução da expressão de IL-1 $\beta$  hepática pelo treinamento aeróbico. Já o treinamento resistido inibe diretamente a transcrição do NF $\kappa$ B e reduz da síntese de TNF- $\alpha$  hepático, o que pode justificar as alterações no tecido hepático dos animais sedentários comparados aos treinados.<sup>3,4</sup>

O grupo AE apresentou menor valor da análise da dimensão fractal no sóleo em relação aos demais, o que pode estar relacionados a menor inflamação tecidual muscular.<sup>18</sup> Kim et al.,<sup>28</sup> que observaram aumento da produção da Proteína de Desacoplamento 2 (UCP-2) seguido de redução da concentração do TNF- $\alpha$  no músculo sóleo pós-treinamento aeróbico. Tais achados sugerem menor inflamação no músculo sóleo de AE pela prática do treinamento aeróbico.

Ambos os grupos treinados apresentaram maior diâmetro das fibras musculares do gastrocnêmio. Sabe-se que o treinamento resistido inibe a via de sinalização do Fator de Crescimento Transformador  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1),<sup>29</sup> enquanto o treinamento aeróbico ativa a via de sinalização do Fator de Crescimento Ligado à Insulina 1 (IGF-1) e do Alvo da Rapamicina em Mamíferos (mTOR).<sup>30</sup> Ambas as vias promovem ativação de células satélite, síntese proteica pós-treinamento para regeneração tecidual e aumento de trofismo muscular no gastrocnêmio.

O menor valor na análise da dimensão fractal e a menor concentração de TNF- $\alpha$  no gastrocnêmio do grupo R comparado aos demais indicam redução da inflamação tecidual, já que o treinamento resistido aumenta a expressão de PGC-1 $\alpha$ , o que ativa a capacidade oxidativa muscular e inibe a síntese de TNF- $\alpha$ .<sup>5</sup>

Observa-se, no entanto, redução da inflamação muscular no sóleo do grupo AE e no gastrocnêmio do grupo R. Lira et al.,<sup>7</sup> que verificaram que o efeito anti-inflamatório em músculos com predomínio de metabolismo glicolítico pode estar relacionado ao teor de glicogênio e ao estresse físico promovido pelo treinamento resistido, enquanto em músculos com predomínio do metabolismo aeróbico, o efeito anti-inflamatório está relacionado à capacidade oxidativa muscular durante o treinamento aeróbico. Tais achados podem justificar os efeitos anti-inflamatórios nos músculos sóleo e gastrocnêmio.

## CONCLUSÃO

Ambos os modelos de treinamento reduziram a massa corporal, o tecido adiposo visceral relativo, a concentração sérica de colesterol total e a inflamação hepática. Entretanto, o treinamento resistido promoveu melhores efeitos metabólicos no fígado e músculo esquelético, além de reduzir a inflamação muscular em ratos em relação ao treinamento aeróbico.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste estudo (processo nº 141645/2017-2).

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

**CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:** Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento do manuscrito. AJBM contribuiu com a obtenção de recursos financeiros, concepção do manuscrito, coleta e análise dos dados e redação do manuscrito. JCSCF, RCTC e SMO contribuíram com a concepção do manuscrito e participaram da discussão dos resultados. JRLM contribuiu com a análise e interpretação dos dados, redação e revisão do manuscrito. WDB contribuiu com a obtenção de recursos financeiros, análise e interpretação dos dados, redação e revisão do manuscrito.

## REFERÊNCIAS

- Cunningham C, Sullivan R, Caserotti P, Tully MA. Consequences of physical inactivity in older adults: A systematic review of reviews and meta-analyses. *Scand J Med Sci Sports.* 2020;30(5):816-27.
- Patsalos O, Keeler J, Schmidt U, Penninx BWJH, Young AH, Himmerich H. Diet, Obesity, and Depression: A Systematic Review. *J Pers Med.* 2021;11(3):176.
- Linden MA, Sheldon RD, Meers GM, Ortinau LC, Morris EM, Booth FW, et al. Aerobic exercise training in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease related fibrosis. *J Physiol.* 2016;594(18):5271-84.
- Sumi K, Ashida K, Nakazato K. Repeated stretch-shortening contraction of the triceps surae attenuates muscle atrophy and liver dysfunction in a rat model of inflammation. *Exp Physiol.* 2020;105(7):1111-23.
- Takegaki J, Ogasawara R, Kotani T, Tamura Y, Takagi R, Nakazato K, et al. Influence of shortened recovery between resistance exercise sessions on muscle-hypertrophic effect in rat skeletal muscle. *Physiol Rep.* 2019;7(13):e14155.
- Agostinetti RR, Rossi FE, Magalhaes AJ, Rocha AP, Parmezani SS, Gerosa-Neto J, et al. Immunometabolic

- Responses after Short and Moderate Rest Intervals to Strength Exercise with and without Similar Total Volume. *Front Physiol.* 2016;7:444.
7. Lira FS, Koyama CH, Yamashita AS, Rosa JC, Zanchi NE, Batista Jr ML, et al. Chronic exercise decreases cytokine production in healthy rat skeletal muscle. *Cell Biochem Funct.* 2009;27(7):458-61.
  8. Faleiros CM, Francescato H, Papoti M, Chaves L, Silva C, Costa R, et al. Effects of previous physical training on adriamycin nephropathy and its relationship with endothelial lesions and angiogenesis in the renal cortex. *Life Sci.* 2017;169:43-51.
  9. Teixeira GR, Fávoro WJ, Pinheiro PFF, Chuffa LGA, Amorim JPA, Mendes LO, et al. Physical exercise on the rat ventral prostate: Steroid hormone receptors, apoptosis and cell proliferation. *Scand J Med Sci Sports.* 2012;22(5):e86-92.
  10. Oliveira ECD, Gonçalves AC, Silva M, Pedrosa ML, Silva ME. Treino físico promove aumento de peso em ratos desnutridos sem causar stress oxidativo. *Motricidade.* 2015;11(2):25-35.
  11. Uslu S, Alaca N, Kilic KD, Uysal A, Kurtel H. The effects of aerobic exercise frequencies on liver fibrosis,  $\alpha$ -fetoprotein and cytokeratin 19 in experimental type 2 diabetes-induced rats: an immunohistochemistry study. *Biotech Histochem.* 2018;93(8):615-22.
  12. Camargo Filho JCS, Garcia BC, Kodama FY, Bonfim MR, Vanderlei LCM, Ramos EMC. Effects of Aerobic Exercise on the Skeletal Muscle of Rats Exposed to Cigarette Smoke. *Rev Bras Med Esp.* 2011;17(6):412-5.
  13. Barbosa Magalhaes AJ, Trindade Camargo RC, Moreira RJ, Seraphim PM, Oikawa SM, Silva Camargo, JC. Intermittent Training Followed by Detraining Provides the Preservation of Hepatic Tissue and Body Composition of Eutrophic rats in Relation to Obese Rats after the Detraining Period. *Int J Morphol.* 2018;36(4):1341-9.
  14. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol.* 1966;30(1):23-38.
  15. Catta-Preta M, Mendonca LS, Fraulob-Aquino J, Aguilá MB, Mandarim-de-Lacerda CA. A critical analysis of three quantitative methods of assessment of hepatic steatosis in liver biopsies. *Virchows Arch.* 2011;459(5):477-85.
  16. Fiuza-Luces C, Santos-Lozano A, Llaverro F, Campo R, Nogales-Gadea G, Díez-Bermejo J, et al. Muscle molecular adaptations to endurance exercise training are conditioned by glycogen availability: a proteomics-based analysis in the McArdle mouse model. *J Physiol.* 2018;596(6):1035-61.
  17. Moreira RD, Moriel AR, Murta Junior LO, Neves LA, Godoy MF. Dimensão fractal na quantificação do grau de rejeição celular miocárdica pós-transplante cardíaco. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2011;26(2):155-63.
  18. Ozaki GAT, Camargo RCT, Koike TE, Garcia TA, Castoldi RC, Camargo Filho JCS. Fractal Analysis of Skeletal Muscle Tissue of Rats Subjected to Stretch Injury. *Int J Morphol.* 2015;33(3):908-13.
  19. Da Rocha AL, Teixeira GR, Pinto AP, de Moraes GP, Oliveira LDC, De Vicente LG, et al. Excessive training induces molecular signs of pathologic cardiac hypertrophy. *J Cell Physiol.* 2018;233(11):8850-61.
  20. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. 8th ed. Hoboken: Wiley; 1991.
  21. Rahmati-Ahmadabad S, Shirvani H, Ghanbari-Niaki A, Rostamkhani F. The effects of high-intensity interval training on reverse cholesterol transport elements: A way of cardiovascular protection against atherosclerosis. *Life Sci.* 2018;209:377-82.
  22. Matta L, Fonseca TS, Faria CC, Lima-Junior NC, De Oliveira DF, Maciel L, et al. The Effect of Acute Aerobic Exercise on Redox Homeostasis and Mitochondrial Function of Rat White Adipose Tissue. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:4593496.
  23. Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS, Marcondes FK. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. *Life Sci.* 2005;77(9):1030-43.
  24. Domingos MM, Rodrigues MF, Stotzer US, Bertucci DR, Souza MV, Marine DA, et al. Resistance training restores the gene expression of molecules related to fat oxidation and lipogenesis in the liver of ovariectomized rats. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(4):1437-44.
  25. Kowalski GM, Bruce CR. The regulation of glucose metabolism: implications and considerations for the assessment of glucose homeostasis in rodents. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(10):E859-71.
  26. Accioly MF, Souza DRS, Padulla SAT, Camargo Filho JCS, do Carmo EM, Martins AT, et al. Effect of statins and aerobic physical exercise on liver function in dyslipidemic rats - Morphometric study. *Int J Morphol.* 2013;31(4):1309-16.
  27. Jarrar BM, Taib NT. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi J Biol Sci.* 2012;19(2):203-10.
  28. Kim DH, Kim SH, Kim WH, Moon CR. The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF- $\alpha$  of soleus muscle in obese Zucker rats. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2013;17(4):199-207.
  29. Nikoioie R, Jafari-Sardoie S, Sheibani V, Nejadvaziri Chatroudi A. Resistance training-induced muscle hypertrophy is mediated by TGF- $\beta$ 1-Smad signaling pathway in male Wistar rats. *J Cell Physiol.* 2020;235(7-8):5649-65.
  30. Yin L, Lu L, Lin X, Wang X. Crucial role of androgen receptor in resistance and endurance trainings-induced muscle hypertrophy through IGF-1/IGF-1R- PI3K/Akt- mTOR pathway. *Nutr Metab (London).* 2020;17:26.