

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

PEDRO AUGUSTO SILVA NOGUEIRA

**RESPOSTA ASTROCITÁRIA NO HIPOTÁLAMO DE
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA E
TREINAMENTO FÍSICO**

UBERLÂNDIA

2016

PEDRO AUGUSTO SILVA NOGUEIRA

**RESPOSTA ASTROCITÁRIA NO HIPOTÁLAMO DE
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA E
TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas
da Universidade Federal de Uberlândia como requisito
parcial à obtenção do título de mestre em Biologia
Celular

Orientadora: Profa. Dra. Renata Graciele Zanon

UBERLÂNDIA

2016

Dedico este trabalho à amiga Renata Zanon, aos colaboradores, aos professores do instituto, aos colegas de laboratório, aos amigos e familiares, por toda dedicação, paciência, atenção e sinceridade.

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Renata Zanon pela oportunidade, confiança, incentivo, dedicação e paciência na execução deste trabalho. Aos alunos de iniciação científica Vinicius, Jeferson e Mirian, por me acompanharem e ajudarem nos dias de semana e finais de semana, com uma parte do trabalho.

À aluna de pós Doutorado Daniela Soares Razolli, do laboratório de sinalização celular (Labsincel) do professor Dr. Lício Velloso, faculdade de ciências médicas UNICAMP, pela parceria e por todo carinho, paciência e atenção com este trabalho.

Aos alunos de Doutorado Nayara de Medeiros e Rafael Mattos do laboratório de biologia das interações celulares (LABIC) da professora Dr. Juliana Estanislau, departamento de morfologia da UFMG, pela colaboração, paciência e atenção.

Aos professores do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia (ICBIM-UFU), Professoras Dra. Daniele Ribeiro e Dra. Tatiana Tomiosso por toda ajuda e colaboração com a parte histológica.

Aos professores e alunos do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia (INGEB-UFU), Dra. Françoise Botelho e Dr. Foued Spindola, pelo acesso e pela ajuda no processamento bioquímico.

Agradeço à técnica do departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Uberlândia (ARIFS-UFU), Dra. Simone Deconte pela ajuda com o processamento de amostras.

Aos alunos do programa de Biologia Celular e Estrutural Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, Breno Landim, Julia, Francyele Borges, Douglas, Bruno Ferreira pela paciência, conversas, risadas, almoços e por compartilharem momentos difíceis na execução dos experimentos.

À Bruna Neves pela paciência e companheirismo na execução final do trabalho.

Aos funcionários e secretarias do Instituto de Ciências Biomédicas e do Departamento de Anatomia, Área de morfologia, agradeço pela ajuda com a parte burocrática e limpeza dos laboratórios.

Por fim, agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas da UFU e ao seu Colegiado e Coordenação, bem como, às Agências de fomento CNPq e CAPES.

Meus sinceros e verdadeiros agradecimentos, Pedro Nogueira.

“Paz que parece longe? Espera trabalhando.
Tribulações à mostra? Permanece em serviço.
Provas multiplicadas? Mais amor em ação.
Lutas e desafios? Serve mais em silêncio.
Sob golpes na pedra, é que surge a obra prima.
Quem espera recebe a resposta de Deus”.

(Emmanuel/ F. C. Xavier)

RESUMO

O consumo de dietas hiperlipídicas, ricas em ácidos graxos saturados, induz o ganho de peso corporal e a expressão de citocinas pró inflamatórias que podem ativar vias de apoptose em neurônios que controlam fome e saciedade no hipotálamo. A atividade física e a mudança de hábito alimentar representam alguns tratamentos para a obesidade. Assim, o foco do trabalho foi estudar a resposta corporal de animais submetidos à dieta hiperlipídica e treinamento físico, com exercício de natação, e analisar a reatividade glial, densidade sináptica, morte celular e perfil de expressão de citocinas no hipotálamo. Após 16 semanas de tratamento com dietas, sendo as 8 últimas com atividade física, os animais tiveram o hipotálamo extraído para análise dos núcleos arqueado, paraventricular e lateral. Os grupos que ingeriram dieta hiperlipídica (HFD) mostraram aumento de peso corporal, hipofagia, maior adiposidade, maior taxa glicêmica, juntamente, com maior reatividade astrogliar, menor densidade sináptica, maior TNF e IL-6, e, maior expressão das proteínas caspases 3 e 7 clivadas, em relação aos grupos que foram alimentados com dieta padrão (ND). O grupo HFD que praticou natação com carga de 80% da carga máxima atingida no teste progressivo de esforço foi o que mostrou melhores resultados para os dados fisiológicos e para as dosagens de citocinas e caspases, bem como, mostraram menor reatividade astrogliar e maior densidade sináptica, indicando um papel protetor do exercício físico praticado nesse trabalho.

Palavras-chaves: Hipotálamo. Dieta hiperlipídica. Exercício físico. Astrócitos. Sinapse.

ABSTRACT

The consumption of diets rich in saturated fatty acids induces a gain in body weight and the expression of cytokines pro-inflammatory that can enable the process of apoptosis in neurons that control food intake and satiety in the hypothalamus. Physical activity and the change of dietary habits are the treatments for obesity. Thus, the focus of the study was to evaluate the response of animals submitted to fat diet and physical training, with the exercise of swimming, and analyze the glial reactivity, synapse density, cell death and profile of expression of cytokines in the hypothalamus. After 16 weeks of treatment with diets, being the 8 latest with physical activity, the animals had the hypothalamus extracted for analysis of arcuate, paraventricular and lateral nuclei. The groups that ingested the high fat diet (HFD) showed increased body weight, hypofagia, greater adiposity, increased glucose, along with greater astroglial reactivity, lower synaptic density, greater TNF and IL-6, and, greater expression of s 3 and 7 caspases in relation to the groups that were fed with standard diet (ND). The HFD group that practiced swimming with a load of 80% of the maximum load reached in the progressive effort test showed better results for physiological data and for the determination of cytokine and caspases levels, as well as, showed lower astroglial reactivity and higher synaptic density, indicating a protective role of physical exercise practiced in this work.

Keywords: Hypothalamus. High fat diet. Physical exercise. Astrocytes. Synapse.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mapa mundial de prevalência de excesso de peso	14
Figura 2: Média do IMC da população adulta mundial	15
Figura 3: Representação de subpopulações de neurônios no hipotálamo	23
Figura 4: Grupos e aquário com atividade de natação dos camundongos	37
Figura 5: Evolução do peso corporal (em gramas, g)	44
Figura 6: Ingestão calórica	46
Figura 7: Imunomarcção anti-GFAP em corte histológico do hipotálamo	47
Figura 8: Imunomarcção anti-sinaptofisina em corte histológico do hipotálamo	48
Figura 9: Imunomarcção anti-TLR4 em corte histológico do hipotálamo	49
Figura 10: Imunomarcção anti-IL6 em corte histológico do hipotálamo	50
Figura 11: Gráficos das médias dos núcleos lateral e paraventricular	52
Figura 12: Western Blotting para proteína GFAP	53
Figura 13. Análise quantitativa por citometria de Fluxo	54
Figura 14: Ensaio fluorimétrico para mensuração da atividade da caspase 3 e 7	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Elementos de atividade física e exercício	30
Tabela 2: Composição da dieta controle e hiperlipídica	34
Tabela 3: Mix de minerais (REEVES et al., 1993)	35
Tabela 4: Mix de vitaminas (REEVES et al., 1993)	35

LISTA DE SIGLAS

ADAM8	“Disintegrin Like Metalloproteinase”
AgRP	Peptídio Relacionado ao Agouti
ArcN	Núcleo Arqueado
BDNF	“Brain Neurotrophic Derived Factor”
CART	Transcrito Relacionado a Cocaína e Anfetamina
CCK	Colecistoquinina
c-rel	Componente Protéico Ativador de Transcrição
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofinas
COX2	Ciclooxigenase 2
DNA	“Deoxyribonucleic Acid”
eIF2 α	Subunidade α do Fator 2 de Iniciação de Tradução
GABAR	Receptor “Gamma Aminobutyric Acid”
GFAP	Proteína Acidífera Fibrilar Glial
GHSR	Receptor de Grelina
GIP	Poli-peptídeo Insulino-trópico Dependente de Glicose
GLP1	Peptídeo 1 Semelhante a Glucagon
GluR	Receptor de Glutamato
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN γ	Interferon Gama
I κ B	Proteína Inibitória
IKK	Quinase da Proteína Inibitória
IKK α	Quinase da Proteína Inibitória α
IKK β	Quinase da Proteína Inibitória β
IL1-IL1RA	Antagonista do Receptor de Interleucina 1
IL1 β	Interleucina 1 β

IL6	Interleucina 6
JAK2	Proteína Janus Quinase 2
JNK	c-Jun N-terminal Quinase
Kcal	Kilocalorias
KJ	Kilojoules
Ki67	Proteína Nuclear de Proliferação Celular
LepR	Receptor de Leptina
LH	Hipotálamo Lateral
LPL	Lipase Lipoprotéica
LPS	Lipopolissacádido
MCP1	“Monocyte Chemoattractant Protein 1”
MET	Equivalentes Metabólicos de Tarefa
MCH	Hormônio Concentrador de Melanocortina
MC3R	Receptor 3 da Melanocortina
MC4R	Receptor 4 da Melanocortina
MIP1 α	“Macrophage Inflammatory Protein-1 α ”
mTOR	Protina Mamífero Alvo de Rapamicina
NCDS	“Noncommunicable Diseases”
NFkB	Fator de Transcrição Nuclear Kappa B
NPY	Neuropeptídeo Y
NPYR	Receptor de NPY
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORE	Orexina
PCR	Proteína C Reativa
PERK	Quinase Pancreática do Retículo Endoplasmático
PKC θ	Proteína Quinase C Teta
PKR	Proteína Quinase R

POMC	Proopiomelanocortina
PTP1B	Proteína Tirosina Fosfatase 1B
PVN	Núcleo Paraventricular
RAW 264.7	Linhagem Celulares de Macrófagos Periféricos
SNC	Sistema Nervoso Central
SOCS3	Supressor de Sinalização de Citocina
STAT3	Fator de Transcrição 3
TLRs	“Toll Like Receptors”
TLR4	“Toll Like Receptor 4”
TNF α	Fator de Necrose Tumoral
TRH	Hormônio Liberador de Tireotrofinas
VHM	Hipotálamo Ventro Medial
OMS	“World Health Organization”
α -MSH	Hormônio Estimulador dos Melanócitos α

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
	2.1 Obesidade e Fatores Predisponentes.....	13
	2.2 Sinais Inflamatórios na Obesidade e Ácidos Graxos Saturados.....	17
	2.3 Controle do Balanço Energético e Inflamação Hipotalâmica.....	21
	2.4 Células da Glia, Astrogliose Hipotalâmica e Morte Neuronal.....	24
	2.5 Atividade Física, Exercício Físico, Efeitos na Inflamação Sistêmica e Efeitos na Inflamação Hipotalâmica Induzida por Dieta Hiperlipídica	29
3	OBJETIVOS.....	33
	3.1 Objetivo Geral.....	33
	3.2 Objetivos Específicos.....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
	4.1 Animais e Dieta Hiperlipídica.....	34
	4.2 Animais e Treinamento Físico.....	36
	4.3 Coleta das Variáveis Fisiológicas.....	37
	4.4 Extração, Inclusão e Corte Histológico do Tecido.....	37
	4.5 Imunofluorescência.....	38
	4.6 Coleta de Sangue, Extração Total de Proteínas e Western Blotting.....	39
	4.7 Citometria de Fluxo Pelo Sistema Fluorimétrico com Microesferas Fluorescentes (Cytometric Bead Array-CBA).....	40
	4.8 Estudo da Atividade das Caspases 3 e 7.....	42
	4.9 Análise Estatística.....	42
5	RESULTADOS.....	43
	5.1 Peso Corporal e Tecido Adiposo Visceral.....	43
	5.2 Ingestão Alimentar e Glicemia.....	45
	5.3 Imunofluorescência: GFAP, Sinaptofisina, TLR4 e IL6.....	46
	5.4 Western Blotting para GFAP.....	53
	5.5 Citometria de Fluxo- Método CBA.....	54
	5.6-Análise Fluorimétrica da Atividade de Caspases 3 e 7.....	55
6	DISCUSSÃO.....	57
7	CONCLUSÕES.....	65
8	REFERÊNCIAS.....	66
	ANEXO (aprovação comitê de ética).....	83

1. INTRODUÇÃO

Um dos fatores predisponentes para obesidade é o consumo de dietas com alto teor de ácidos graxos saturados que, por sua vez, está relacionado com o ganho de peso, adiposidade, promoção da inflamação sistêmica e hipotalâmica de baixos graus, resistência à insulina e leptina em tecidos periféricos e no tecido nervoso, além de aumentar o risco para doenças cardiovasculares, *diabetes* tipo 2 e alguns tipos de cânceres (HAMILTON et al., 2007; LEE et al., 2012; FINUCANE et al., 2011; HEINONEN et al., 2013; LÉON-PEDROZA et al., 2015; LYONS et al., 2016; VELLOSO, 2009). Por outro lado, o exercício físico é dito como tratamento não invasivo e não farmacológico da obesidade. A atividade física tem sido referida para reduzir o peso corporal, adiposidade, aumentar o gasto energético e melhorar o estado geral metabólico de pacientes obesos (SORENSEN et al., 2010; TUOMILEHTO et al., 2001; MISRA et al., 2008). Além disso, fortes evidências apontam que o treinamento físico na obesidade induzida por dieta hiperlipídica atua de forma sistêmica, atingindo e influenciando a atividade de tecidos metabolicamente relevantes (PEDERSEN et al., 2001; PALEY e JOHNSON 2016; YOU et al., 2013; McMURRAY e HACKNEY 2005), como também atua em nível celular, induzindo células como astrócitos e microglia, considerados células imuno-competentes, a se proliferarem, tornarem mais reativas e a secretar citocinas que vão contribuir com a melhora da inflamação e modulação de processos de morte/sobrevivência celular (YI et al., 2012; LEITE et al., 2016; LAING et al., 2016).

Assim, este estudo objetivou analisar alguns efeitos da prática de atividade física na inflamação hipotalâmica induzida por dieta rica em ácidos graxos saturados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1-Obesidade e Fatores Predisponentes

Obesidade e sobrepeso são definidos como o acúmulo excessivo de gordura que apresenta risco a saúde, decorrente do desequilíbrio entre ingestão alimentar e gasto energético. O desequilíbrio energético está intimamente associado com o aumento do consumo de dietas com alto teor de gordura saturada e um estilo de vida sedentário (OMS, 2016; HEINONEN et al., 2013; OGDEN et al., 2007).

Atualmente a obesidade é considerada uma epidemia global que atinge países ricos e pobres. Estudos epidemiológicos mostram que a prevalência global de sobrepeso e obesidade combinada apresentou um aumento de 27,5% do número de adultos entre 1980 e 2013, o que representa em número de indivíduos um aumento de 921 milhões de pessoas no ano de 1980 para 2,1 bilhões de pessoas em 2013 (NG et al., 2015). As projeções indicam que em 2030, aproximadamente 57,8% da população mundial apresentará sobrepeso ou obesidade, o que corresponde a 3,3 bilhões de pessoas (KELLY et al., 2008). A Figura 1 ilustra a prevalência de obesidade e sobrepeso na população mundial (KELLY et al., 2008).

Considerando os elevados índices de obesidade e sua prevalência e perspectivas de aumento do número de indivíduos a se tornarem obesos nos próximos anos, faz-se necessário manter a vigilância da população e utilização de políticas públicas (OGDEN et al., 2014; KOHL et al., 2012), buscando assim uma conscientização global dos indivíduos nos aspectos relativos às práticas alimentares.

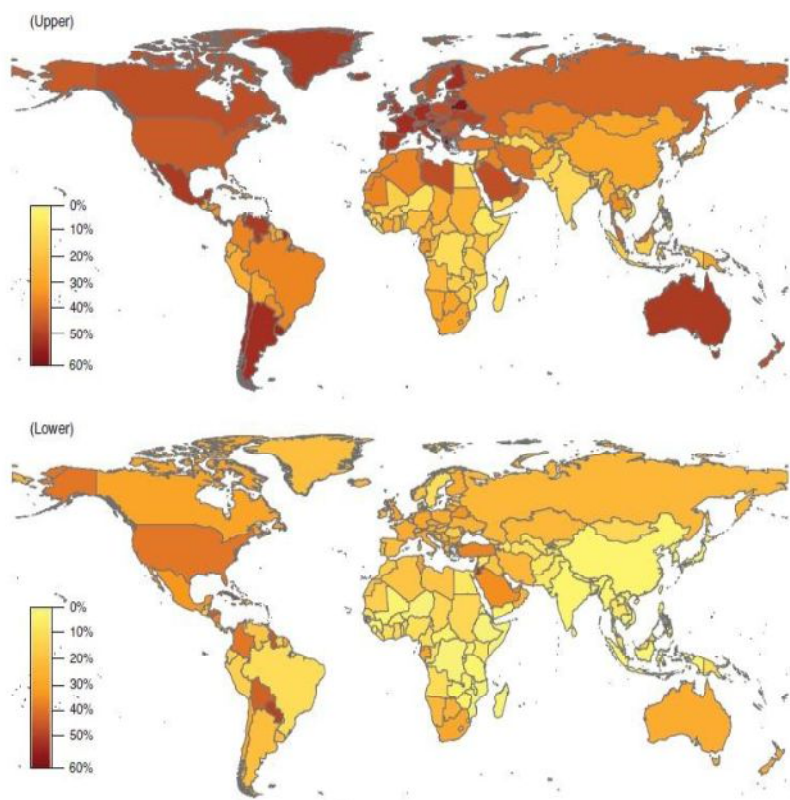


Figura 1: Mapa mundial de prevalência de excesso de peso (upper) e obesidade (lower) em adultos com 20 anos ou mais de idade em 2005 (Fonte: KELLY et al., 2008).

Na prática clínica a obesidade ou sobrepeso podem ser diagnosticados por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), que é calculado a partir do peso do indivíduo, em quilogramas (Kg), dividido pelo quadrado da altura, em metros (m^2), resultando no IMC Kg/m^2 . Assim sendo, o indivíduo com IMC maior ou igual a $25\text{ Kg}/m^2$ é considerado com sobrepeso e, maior ou igual a $30\text{ Kg}/m^2$ é classificado como obeso (OMS, 2016). Em 2014, a Organização Mundial de Saúde (OMS) mostrou que 39% dos adultos com idade superior a 18 anos estavam acima do peso ($IMC \geq 25\text{ Kg} / m^2$ (39% dos homens e 40% das mulheres), e que 13% eram obesos ($IMC \geq 30\text{ kg} / m^2$) (11% dos homens e 15% das mulheres), o que representa que quase 2 bilhões de adultos em todo o mundo estão acima do peso e, destes, mais de meio bilhão são obesos. A Figura 2 mostra um panorama da média do IMC da população adulta mundial (maiores de 18 anos).

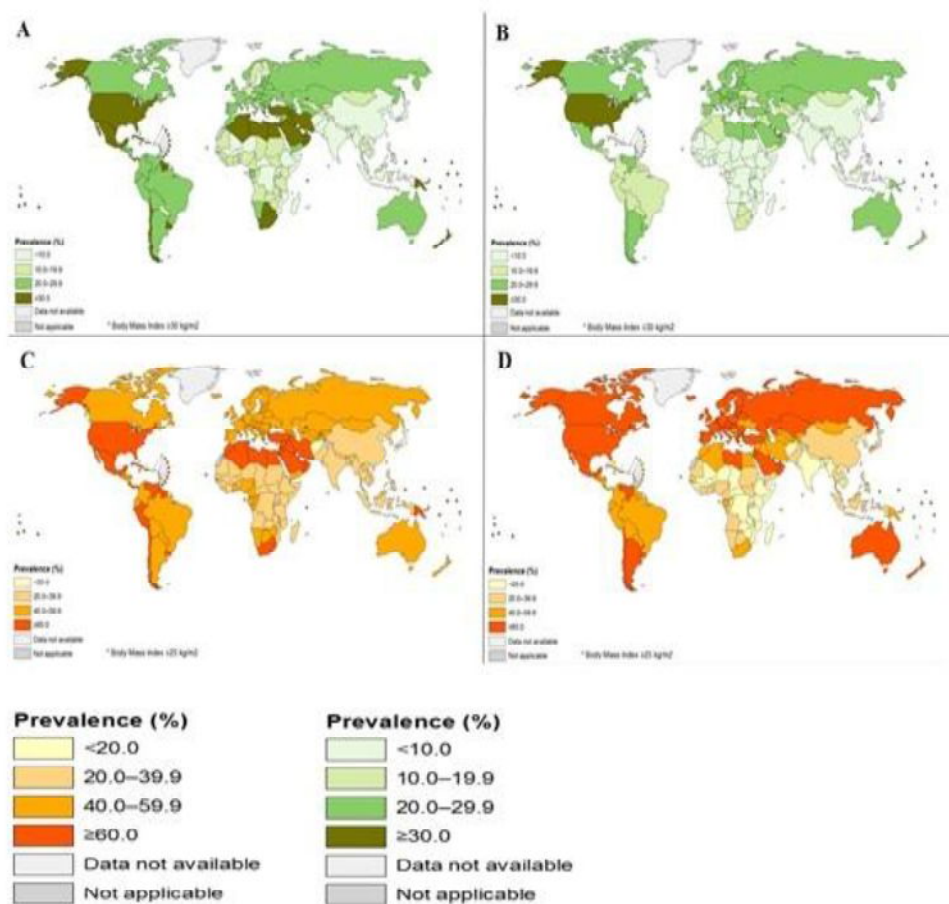


Figura 2: Média do IMC da população adulta mundial (maiores de 18 anos). Em A e C, obesidade e sobrepeso respectivamente da população feminina, e, B e D obesidade e sobrepeso respectivamente da população masculina (adaptado de OMS, 2015).

FINUCANE et al. (2011) mostraram a existência de uma tendência no aumento do IMC para homens adultos de 0,4 Kg/m² e para mulheres adultas de 0,5 Kg/m² ao longo de uma década. Em um estudo transversal foi mostrado que o consumo de alimentos obesogênicos e o comportamento sedentário representaram hábitos fortemente relacionados com o aumento da circunferência da cintura, IMC e risco aumentado para desenvolvimento da obesidade (HEINONEN et al., 2013). Esse aumento no IMC e sua forte relação com um comportamento sedentário e inatividade física se manifestam como os principais fatores de risco para as

doenças não comunicáveis (NCD), entre elas as cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2 e alguns tipos de cânceres, como o câncer de mama e de cólon (HAMILTON et al., 2007; LEE et al., 2012; FINUCANE et al., 2011; LEE et al., 2012; HEINONEN et al., 2013).

No Brasil, estudos epidemiológicos baseados no cálculo do IMC apontaram que, no conjunto das 26 capitais brasileiras e Distrito Federal, a frequência de excesso de peso foi de 52,2% (sendo maior entre homens: 60,8%), enquanto, para obesidade, os valores para a população adulta foram de 16,8% (VIGITEL, 2014). Um estudo epidemiológico mostrou que, aproximadamente 49,2% e 58,3% dos casos de diabetes *mellitus* na população brasileira feminina estão associados ao sobrepeso e à obesidade, e para o gênero masculino foi representado que 40,5% e 45,4% de casos de diabetes mantiveram uma associação ao sobrepeso e à obesidade respectivamente (FLOR et al., 2015).

Essas frequências elevadas refletem fatores que, no passado, contribuíram para a instalação do sobrepeso e da obesidade na população brasileira. Um desses fatores é a migração interna pois, segundo o IBGE, em 1970 aproximadamente 58,0% da população residia em áreas urbanas e, em 2000, a população que residia nos aglomerados urbanos chegou a 81,0%. Associado à concentração da população na área urbana, ocorreu o crescimento da alimentação fora de casa, crescimento na oferta de refeições rápidas (*fast food*) e a ampliação do uso de alimentos industrializados/processados (MENDONÇA & ANJOS, 2004), que favoreceram o consumo de alimentos como carnes com excesso de gordura, leite integral, doces e refrigerantes (VIGITEL, 2014).

Em paralelo com os fatores predisponentes da obesidade e sobrepeso como, por exemplo, os maus hábitos alimentares, a inatividade é destacada como fator importante para o desenvolvimento de doenças não comunicáveis (LEE et al., 2012). Além disso, a inatividade física atualmente é considerada uma pandemia, sendo prevalente em países muçulmanos (KAHAN, 2015) e considerado um problema de saúde pública (KOHL et al., 2012).

2.2-Sinais Inflamatórios na Obesidade e Ácidos Graxos Saturados

Os primeiros indícios de sinais inflamatórios relacionados com a obesidade surgiram em 1993 a partir de trabalhos de HOTAMISLIGIL et al. que identificaram o aumento da expressão do RNA mensageiro do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , uma citocina pro-inflamatória) no plasma de roedores obesos e no tecido adiposo branco. Esse sinal inflamatório representado pela expressão gênica de TNF- α apontou indícios do possível papel dessa citocina na supressão do receptor de insulina (IR) e seu substrato (IRSs), sugerindo, assim, uma relação entre a expressão de TNF- α e o desenvolvimento de resistência à insulina (HOTAMISLIGIL et al., 1993; HOTAMISLIGIL & SPIEGELMAN, 1994; HOTAMISLIGIL, 2000). Paralelamente aos estudos com roedores, alguns trabalhos utilizando humanos mostraram que a expressão gênica de TNF- α estava aumentada no tecido adiposo dos obesos quando comparados aos indivíduos saudáveis e que a atividade da lipase lipoprotéica (LPL) apresentou uma correlação inversa com a expressão de TNF- α . Além disso, houve uma redução da LPL em indivíduos obesos que apresentaram perda de peso, sugerindo a redução do tecido adiposo e consequentemente diminuição do TNF α , sendo, então, um componente chave no processo da patogênese da obesidade e resistência a insulina (HOTAMISLIGIL et al., 1995; KERN et al., 1994).

O fator nuclear kB (NFkB) é um complexo protéico que apresenta na sua estrutura um componente ativador de transcrição, o c-rel (INOUE et al., 1991). O NFkB está presente no citoplasma da maioria das células eucarióticas de forma inativa, ligado a uma proteína inibidora, Ikb (NFkB/Ikb). O complexo quinase do Ikb, representado pelo IKK, consiste de duas subunidades de quinases, IKK α e IKK β (ZANDI et al., 1997), que ativam e catalisam a fosforilação do Ikb, que é degradado, deixando o complexo protéico NFkB livre para se deslocar para dentro do núcleo da célula, se ligar à molécula de DNA e assim regular a

transcrição de alguns genes relacionados com sinais pró inflamatórios, como interleucina 1 β (IL1 β), interleucina 6 (IL6) e TNF- α . Alguns estímulos inflamatórios, como LPS (lipopolissacarídeo), TNF- α e ácidos graxos livres (presentes em dietas hiperlipídicas) podem ativar o complexo protéico NF κ B (INOUE et al., 1991; GRILLI et al., 1993; KOPP e GHOSH., 1994; LEE et al., 2001; SHOELSON et al., 2003; XU et al., 2003).

Anos mais tarde, SARTIPY e LOSKUTOFF (2003) demonstraram que a expressão gênica da quimiocina, proteína 1 quimioatraente de macrófago (MCP1) estava aumentada no tecido adiposo branco quando comparada com outros tecidos (fígado, rins e pulmões), sugerindo assim, que o tecido adiposo fornece sinais para o recrutamento e ativação de macrófagos os quais são, em maior parte, responsáveis pelo aumento da expressão de genes inflamatórios no tecido adiposo, e que a resposta inflamatória neste tecido aumenta proporcionalmente à adiposidade. Em outro estudo utilizando modelos genéticos de animais obesos e roedores com obesidade induzidos por dieta, os resultados mostraram que a expressão de genes relacionados à inflamação, como por exemplo, a metaloproteinase semelhante à desintegrina (ADAM8), proteína 1- α de macrófago inflamatório (MIP1 α) e MCP1, foi maior em animais alimentados com dieta durante 16 semanas do que modelos genéticos de obesidade (XU et al., 2003). Sendo assim, a inflamação do tecido adiposo leva a um aumento dos níveis de citocinas pró inflamatórias circulantes e de ácidos graxos livres, agravando o estado de obesidade, o quadro de resistência à insulina e diabetes tipo 2 (PEREIRA e ALVARES-LEITE, 2014). A obesidade está associada com estímulo da secreção de hormônios metabólicos (insulina, leptina e glucagon) e citocinas (IFN γ , TNF, IL6, IL1 β , IL10 e MCP1) no plasma de chimpanzés obesos e com sobrepeso quando comparado com chimpanzés eutróficos, e a expressão elevada de citocinas como IL6 e IL1 β pode ser referida como um fator contribuinte para o diabetes tipo 2 (SPRANGER et al., 2003; NEHETE, 2014).

A evidência de que a resposta inflamatória é maior em animais alimentados com dieta rica em gordura saturada direcionou algumas pesquisas a investigarem o papel das dietas como fator promotor de obesidade e inflamação. Moléculas pró inflamatórias produzidas e secretadas pelo tecido adiposo com infiltrado de macrófagos contribuem para o processo inflamatório crônico e sistêmico característico da obesidade. Além disso, contribui para o desenvolvimento de um quadro de resistência à insulina, provocada pela lipólise e liberação de ácidos graxos livres pelo tecido adiposo (XU et al., 2003). Para reforçar a hipótese do papel dos ácidos graxos na indução de uma resposta inflamatória, outro estudo utilizando linhagem celular de macrófagos periféricos (RAW 264.7) mostrou que quando essas células eram estimuladas por ácidos graxos saturados, induziam a expressão gênica da forma induzível do mediador inflamatório ciclooxygenase 2 (COX2) (LEE et al., 2001). No mesmo estudo foi pontuado que a indução da expressão de COX2 é um evento mediado pela ativação do receptor semelhante ao Toll (TLR4), um componente da família de receptores imune inatos que reconhece lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana externa de bactérias gram negativas (AKIRA & TAKEDA, 2004), e que este processo ativa o fator de transcrição nuclear kB da molécula de NFkB.

De fato, os níveis aumentados de TNF- α contribuem para a instalação de um processo inflamatório sistêmico. Esse processo inflamatório sistêmico de origem no tecido adiposo é referido como um estado de inflamação crônica e sistêmica de baixo grau (FEINGOLD et al., 1989; OUCHI et al., 2001; PEREIRA & ALVARES-LEITE, 2014). Sendo assim, fica evidente a existência de um processo inflamatório de baixo grau de origem metabólica que atinge tanto tecido adiposo, plasma e outros tecidos metabolicamente ativos, como fígado e músculo esquelético, e que essa inflamação, provocada pelos ácidos graxos livres, é caracterizada pela presença de citocinas pró inflamatórias como TNF- α , interleucinas (IL1 β , IL6 e IL17), proteína C reativa e infiltrado de células imunes, representados principalmente

pelos macrófagos (XU et al., 2003; THALER & SCHWARTZ, 2010; LÉON-PEDROZA et al., 2015; LYONS et al., 2016). A relação entre obesidade e inflamação sistêmica de baixos níveis está presente também em adolescentes com sobrepeso ou obesidade, visto que adolescentes obesos têm maiores níveis de marcadores pro-inflamatórios sistêmicos, tais como proteína C reativa (PCR), adiponectina, TNF- α e IL6 do que quando comparados com adolescentes magros (ADABIMOHAB et al., 2016).

A atividade aumentada da proteína JNK foi identificada no tecido adiposo, músculo e fígado de animais com obesidade induzida por dieta, modelos de animais geneticamente modificados com obesidade e também em humanos obesos. Essa atividade elevada esteve relacionada com altos níveis de ácidos graxos livres e com a presença de elevados níveis de TNF- α (HOTAMISLIGIL, 2000; AGUIRRE et al., 2000; HIROSUMI et al., 2002; OZCAM et al., 2004), o que leva a crer que o mecanismo relacionado com patogênese da obesidade e da resistência a insulina pode estar relacionado com a presença dos ácidos graxos saturados e a ativação de TNF- α e JNK.

A obesidade em modelos de animais geneticamente modificados e induzidos por dieta acompanha, além de um processo inflamatório, um processo de estresse do retículo endoplasmático, sendo evidente pelos níveis elevados de fosforilação de quinase pancreática do retículo endoplasmático (PERK), subunidade α do fator 2 de iniciação de tradução (eIF2 α) e c-Jun N-terminal quinase (JNK), promovendo um prejuízo na sinalização da insulina e contribuindo para um quadro de diabetes tipo 2 (OZCAM et al., 2004).

Sendo assim, os ácidos graxos saturados de cadeia longa podem contribuir para um estado de inflamação metabólica e de resistência à insulina através de sinais extracelulares como, por exemplo, ativação de proteínas que culminam com o estresse do retículo endoplasmático, tais como JNK, PERK e eIF2 α , ativação da sinalização de TLR4, proteína PKC θ e proteína quinase R (PKR), e por meio de sinais intracelulares, marcados pela ativação

de proteínas como JNK, NFkB e proteína de mamífero alvo de rapamicina (mTOR), tendo como alvo tecidos metabolicamente relevantes, como tecido adiposo, músculo esquelético, fígado e hipotálamo (MILANSKI et al., 2009; VELLOSO et al., 2015; COOPE et al., 2016).

2.3- Controle do Balanço Energético e Inflamação Hipotalâmica

O controle do balanço energético e os mecanismos que regulam a fome, saciedade e termogênese são feitos por circuitos neurais presentes na região hipotalâmica no sistema nervoso central (SNC), onde se localizam neurônios capazes de captar sinais nutricionais e neurônios com receptores específicos para hormônios periféricos, como insulina e leptina (principal hormônio adipostático), que sensibilizam neurônios localizados no núcleo arqueado (neurônios de primeira ordem). Esses, por sua vez, projetam conexões neurais para outros neurônios situados nos núcleos paraventricular (PVN) e lateral (LH), chamados de neurônios de segunda ordem. Essas projeções dos neurônios de primeira ordem são responsáveis por coordenarem a síntese e expressão de peptídeos anorexigênicos como: Proopiomelanocortina (POMC), que é clivado em hormônio estimulador dos melanócitos α (α -MSH) e que atua nos receptores 3 e 4 da melanocortina (MC3R e MC4R) presentes em outras regiões hipotalâmicas, e, transcrito relacionado a cocaína e anfetamina (CART) que inibem a fome. Ainda, os neurônios de primeira ordem coordenam a expressão e síntese de peptídeos orexigênicos como o neuropeptídeo Y (NPY) e a peptídeo relacionado ao Agouti (AgRP), localizados no núcleo arqueado, e que estes neurônios de primeira ordem emitem projeções excitatórias para o hipotálamo lateral e inibitórias para o paraventricular (VAN de SANDE-LEE & VELLOSO, 2012; SCHWARTZ et al., 2000; VELLOSO, 2009). Em resposta, os neurônios do núcleo PVN produzem tanto o neurotransmissor inibidor da fome, hormônio liberador de tireotrofinas (TRH) quanto o pró termogênico hormônio liberador de corticotrofinas (CRH), enquanto no núcleo hipotalâmico lateral, os neurônios sintetizam

predominantemente um neurotransmissor estimulador da fome, orexina (ORE) e outro anti termogênico, hormônio concentrador de melanocortina (MCH) (VELLOSO et al., 2008; WYNNE et al., 2005; CINTRA et al., 2007). Essa resposta coordenada é simultaneamente dependente da disponibilidade de nutrientes, dos níveis de leptina e insulina, e de hormônios intestinais como colecistoquinina (CCK), peptídeo 1 semelhante a glucagon (GLP1) e o polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) (BADMAN & FLIER, 2005).

Desta maneira, em situações de jejum, em que a disponibilidade de nutrientes está reduzida, a concentração plasmática de insulina está baixa e esse sinal periférico leva à indução da expressão de neuropeptídeos como o NPY e AgRP e uma inibição de POMC e CART. Assim, acontece um aumento na atividade de neurônios produtores de orexina e MCH no núcleo lateral do hipotálamo, ambos com potencial orexigênico. Em oposição, quando a situação de disponibilidade de nutrientes é alta e os níveis de insulina e leptina circulante são altos (período pós prandial) neurônios produtores de neuropeptídeos como POMC e CART são estimulados e ativam neurônios do núcleo hipotalâmico paraventricular a expressarem TRH e CRH, que vão promover sinalização anorexigênicas e pró termogênicas. Logo, o hipotálamo controla fisiologicamente o balanço energético corporal, a ingestão alimentar e o gasto energético corporal (VELLOSO et al., 2009). A Figura 3, abaixo, esquematiza a relação dos neurônios, seus hormônios e neuropeptídeos.

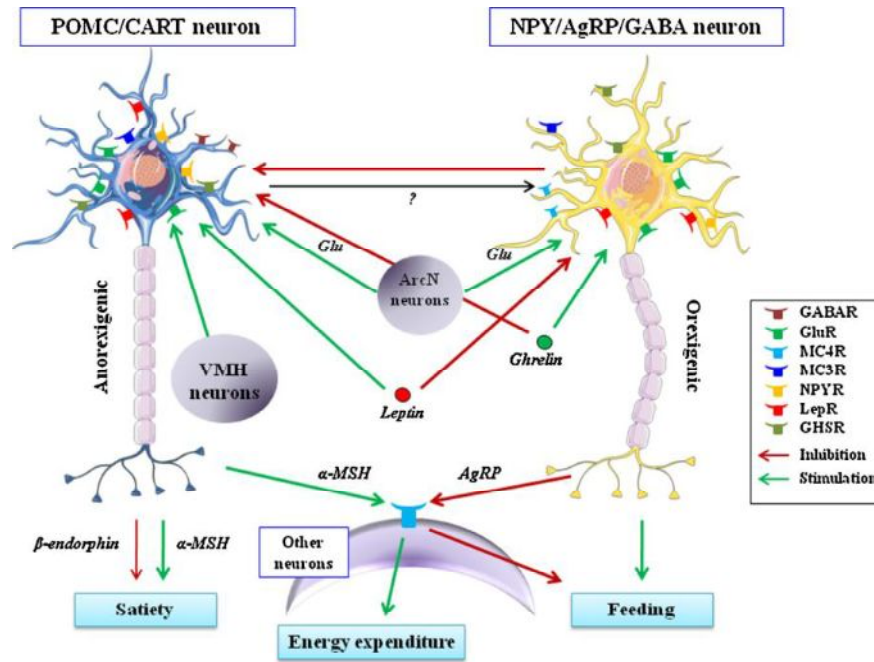


Figura 3: Representação de sub populações de neurônios no hipotálamo; ArcN: núcleo arqueado; GABAR: receptor GABA; GHSR: receptor de grelina; GluR: receptor de glutamato; LepR: receptor de leptina; NPYR: receptor de NPY; VHM: hipotálamo ventro medial. Fonte: CHOWEN et al., 2016.

A existência de um centro regulador do balanço energético corporal, ingestão alimentar e do gasto energético corporal, conduz a um raciocínio em que esse centro de controle fisiológico do hipotálamo possa estar desregulado pelo consumo de dietas ricas em ácidos graxos saturados e em situações de obesidade crônica caracterizada por uma inflamação sistêmica. Sendo assim, nessa perspectiva, De SOUZA et al. (2005), utilizando roedores alimentados com uma dieta rica em ácidos graxos saturados, identificaram a expressão de citocinas pro inflamatórias, como IL6, IL1 β e TNF- α no hipotálamo, sugerindo, então, um processo inflamatório nesta região. Esses sinais inflamatórios culminam em expressões gênicas alteradas em algumas proteínas, como por exemplo, o fator de transcrição 3 (STAT3), o supressor de sinalização de citocina (SOCS3) e proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), que em conjunto, diminuem a sensibilidade do hipotálamo à leptina e insulina, levando a um quadro de resistência a tais hormônios que, progressivamente, acarretam na perda do balanço

entre ingestão de alimentos e termogênese, contribuindo para um balanço energético positivo, com consequente ganho de peso (DE SOUZA et al., 2005; MUNZBERG & MYERS, 2005). Atualmente é conhecido que o processo inflamatório hipotalâmico antecede os sinais inflamatórios periféricos e que o consumo de dietas hiperlipídicas por 24 horas é suficiente para desencadear sinais inflamatórios no hipotálamo, independente do ganho de peso (THALER et al., 2012).

A relação entre consumo de dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados e o processo inflamatório é garantido pela ativação de receptores da família *toll-like*, especialmente o TLR4 (*toll like receptor 4*). Estes receptores estão relacionados com a resposta imune inata e o reconhecimento de lipopolissacarídeos (LPS) presentes na parede externa de bactérias gram negativas (XU et al., 2008; AKIRA & TAKEDA, 2004). Sendo assim, os ácidos graxos de cadeia longa ativam TLR4 e induzem estresse do retículo endoplasmático, marcado pela elevada expressão de proteínas como JNK, PERK e eIF2 α , nos neurônios anorexigênicos hipotalâmicos do núcleo arqueado, e aumento do processo inflamatório, estabelecendo o elo entre a ingestão de alto teor de ácidos graxos e disfunção hipotalâmica na obesidade (MILANSKI et al., 2009).

2.4- Células da Glia, Astrogliose Hipotalâmica e Morte Neuronal

As células que compõe o SNC são agrupadas em três grandes grupos: neurônios, microglia e macroglia. A macroglia é composta por oligodendrócitos, responsáveis pela mielinização dos axônios; endimócitos, células que revestem os ventrículos encefálicos e o canal central da medula; e astrócitos, de origem ectodérmica (RANSOM & KETTENMANN 1990) e principal fonte de fatores de crescimento e de citocinas - que atuam tanto em neurônios quanto nos próprios astrócitos (RANSOM & KETTENMANN, 1990; DONG & BENVENISTE, 2001; GOMES et al., 2013). Há também dois tipos de astrócitos que foram

descritos morfológicamente por ANDRIEZEN em 1893 como astrócito fibroso (mais comuns na substância branca do SNC, com a presença de poucos prolongamentos e estes mais retos) e protoplasmático (mais prevalentes na substância cinzenta e apresentam numerosos prolongamentos citoplasmáticos curtos e ramificados) sendo que ambos contêm feixes de filamentos intermediários compostos de proteína acidífera fibrilar glial (GFAP) (ROSS & PAWLINA, 2011).

A microglia, de origem mesodérmica, é também conhecida por compor os macrófagos residentes do SNC (SCHULZ et al., 2012; RANSOM & KETTENMANN, 1990) sendo, em geral, ativada e recrutada após infecções, lesões ou doenças degenerativas. Em resposta a uma agressão, a microglia é o primeiro tipo celular a responder a uma perturbação da homeostase no SNC, e, rapidamente, migra para a área de dano, se torna ativada no sítio da lesão passando por mudanças morfológicas e se tornando capaz de proliferar intensamente e realizar fagocitose (NIMMERJAHN et al., 2005; PETERSEN & DAILEY, 2004). Assim, a ativação dessas células tem importância na manutenção e do retorno ao estado homeostático (CRONK & KIPNIS, 2013).

Os astrócitos representam um conjunto de células pertencentes à macroglia e vêm recebendo grande atenção científica ao longo dos anos (RANSOM & KETTENMANN, 1990) por serem células que apresentam uma grande heterogeneidade de forma e de função (OBERHEIM et al., 2012). Essa heterogeneidade se expressa, por exemplo, porque astrócitos hipotalâmicos apresentam sua oxidação de ácidos graxos de cadeia longa dependentes de glicose enquanto astrócitos corticais, não (TAIB et al., 2013). Isso suporta a hipótese de que astrócitos hipotalâmicos têm propriedades únicas que permitem que eles participem do controle do metabolismo energético (CHOWEN et al., 2016).

No passado, a noção superficial de que suas funções relacionadas ao suporte estrutural e trófico do tecido, sem relevante contribuição para a função cerebral, tem sido superada por

diversas técnicas experimentais que demonstraram que astrócitos são participantes ativos nos processos de transferência, processamento e armazenamento de informação no SNC (NAVARRETE & ARAQUE 2014), além de estarem envolvidos na transmissão sináptica (PEREA et al., 2009). Atualmente, é conhecido que as funções do astrócitos estão relacionadas com funções estruturais (criação da microarquitetura funcional, regulação do volume extracelular, manutenção da homeostase iônica e regulação do pH extracelular), funções vasculares (formação da barreira hematoencefálica, regulação da microcirculação encefálica e controle do tônus vascular), sobrevivência neuronal (suporte metabólico, defesa antioxidante, crescimento axonal e neurogênese), atuando diretamente na plasticidade sináptica promovendo a liberação de gliotransmissores, regulação de íons do meio extracelular e controle do glutamato extracelular (VOLTERRA & MELDOLESI, 2005; STIPURSKY et al., 2011; STIPURSKY et al., 2012; GOMES et al., 2013).

No ano de 1990, o termo sinapse tripartite foi proposto baseado nas investigações científicas dos anos anteriores de diversos laboratórios, que revelaram a existência de comunicação bidirecional entre neurônios e astrócitos. Foi pontuado que os astrócitos exercem um papel funcional importante na fisiologia sináptica (PEREA et al., 2009), além de favorecerem as sinapses e a eficiência sináptica *in vitro* (PFRIEGER e BARRES, 1997). Desde então, os astrócitos passaram a ser alvos de inúmeras pesquisas e descobertas a respeito de suas múltiplas funções no SNC.

Outro papel direcionado aos astrócitos diz respeito à sua capacidade de responder a muitas formas de danos como, por exemplo, infecções, traumas, isquemias e doenças neurodegenerativas, tais como Alzheimer, Parkinson, acidente vascular encefálico, epilepsia, tumores primários cerebrais, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica (EDDLESTON & MUCKE 1993; BACHOO et al., 2004; SOFRONIEW, 2009; PEKNY & PEKNA, 2014) e, mais recentemente, podem responder a sinais de obesidade aliada a um consumo de dietas

hiperlipídicas (THALER et al., 2012). Os astrócitos tornam-se reativos na presença de insultos e respondem às perturbações com alterações morfológicas e moleculares, se hipertrofiando, proliferando e aumentando a expressão de GFAP, principal constituinte do filamento intermediário de proteínas do citoesqueleto dos astrócitos (PEKNY & PEKNA, 2014; ENG et al., 2000; ENG & GHIRNIKAR, 1994), caracterizando, assim, o processo de astrogliose reativa (SOFRONIEW 2009; PEKNY & PEKNA, 2014).

O evento da astrogliose reativa integra quatro principais características interdependentes, como alterações nos astrócitos que ocorrem em resposta a todas as formas de injúrias e perturbações no SNC; essas alterações ocorridas nos astrócitos reativos variam de acordo com a natureza e severidade do insulto, podendo promover a expressão de substâncias, progressiva hipertrofia celular e, em casos severos, proliferação celular e formação da cicatriz glial, uma espécie de fronteira composta por processos celulares de astrócitos recentemente proliferados que se entrelaçam e se sobrepõem entre a região de dano e a região de tecido saudável (VOSKUHL et al., 2009; WANNER et al., 2013; ANDERSON et al., 2014).

O fato das dietas ricas em ácidos graxos saturados causarem uma perturbação no SNC direcionou o pensamento para o comportamento dos astrócitos frente a este insulto. Desse modo, astrócitos hipotalâmicos se tornam reativos em situações de obesidade induzida por dietas ricas em ácidos graxos saturados (THALER et al., 2012; HORVATH et al., 2010). De fato, a obesidade induzida por dieta rica em ácidos graxos saturados resulta em um processo inflamatório e astrogliose no hipotálamo coincidindo com o desenvolvimento de resistência a insulina e leptina, sendo esse processo dependente de fatores relacionados à dieta e aos hormônios, que alteram a funcionalidade do astrócito na homeostase energética (CHOWEN et al., 2016). Em adição, um processo neurodegenerativo com presença de apoptose

hipotalâmica pode estar associado com os fatores inflamatórios induzidos pela dieta hiperlipídica (GARCÍA-CÁCERES et al., 2012).

O processo inflamatório induzido pelo consumo de dietas ricas em ácidos graxos de cadeia longa ocorre via TLR4, e esse receptor apresenta pontos comuns com a via molecular da apoptose (SIEGEL et al., 2003). As vias de sinalização que direcionam suas ações para efeitos apoptóticos e inflamatórios estabelecem uma íntima relação entre si. Algumas citocinas como TNF- α e IL1 β estabelecem pontos comuns entre as vias de apoptose e inflamação, e podem desencadear efeitos tanto pro apoptóticos quanto anti apoptóticos mediados pelo receptor TLR4. Nessa perspectiva, o consumo de dietas ricas em ácidos graxos induz a expressão de TNF- α e IL1 β , ativam o TLR4 e desencadeiam morte neuronal no hipotálamo de roedores, acometendo principalmente os neurônios anorexigênicos. Em decorrência disso, ocorre redução da densidade de sinapses nos núcleos arqueado e lateral do hipotálamo, um efeito que é dependente da composição da dieta (ácidos graxos de cadeia longa) e não da ingestão calórica (SIEGEL et al., 2003; MILANSKI et al., 2009; MORAES et al., 2009).

A morte neuronal no SNC é um evento modulado por constituintes da glia, como a microglia e os astrócitos (ALDSKOGIUS et al., 1999; PIEHL & LIDMAN, 2001). Os astrócitos assumem um papel importante tanto na inflamação quanto no processo de eliminação sináptica e morte neuronal, apresentando funções diversas nesses processos (ULLIAN et al., 2001). Desse modo, os astrócitos têm um papel chave na inflamação hipotalâmica induzida por ácidos graxos saturados de cadeia longa ao se tornarem reativos, e por se envolverem em processos de morte celular e inflamação.

2.5-Atividade Física, Exercício Físico, Efeitos na Inflamação Sistêmica e Efeitos na Inflamação Hipotalâmica Induzida por Dieta Hiperlipídica

Atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que resultam em despesa energética (CASPERSEN, et al., 1985). A quantidade de energia necessária para realizar uma atividade pode ser medida tecnicamente em kilojoules (KJ), que mensura a energia gasta, ou em kilocalorias (Kcal), uma medida de calor usada com frequência (DAVIDSON, et al., 1979; CASPERSEN, et al., 1985).

A atividade física pode ser subdividida em atividade física de lazer como dançar, nadar, atividades de jardinagem e caminhadas; atividade física fundamentada na locomoção (caminhar ou pedalar); e de funções ocupacionais ou de trabalho, sendo consideradas as tarefas domésticas, jogos e esportes dentro de um contexto diário, familiar e de atividades comunitárias (OMS, 2016).

O termo exercício físico tem sido utilizado de forma intercambiável com o termo atividade física, por ambos apresentam componentes comuns (TAYLOR, 1983), como mostrado na Tabela 1. Entretanto, exercício não é sinônimo de atividade física uma vez que é, na verdade, uma subcategoria de atividade física que, além de apresentar elementos em comum, possui outros elementos. Assim, a definição de exercício é dita como uma atividade física planejada, estruturada, repetitiva e intencional, objetivando melhorar ou manter um dos componentes da aptidão física, tais como resistência cardiorespiratória, força e resistência muscular, composição corporal e flexibilidade (CASPERSEN et al., 1985).

ATIVIDADE FÍSICA	EXERCÍCIO FÍSICO
Movimento corporal via músculos esqueléticos;	Movimento corporal via músculos esqueléticos;
Resulta em gasto energético;	Resulta em gasto energético;
Gasto energético (Kilocalorias) varia continuamente de baixa a alta;	Gasto energético (Kilocalorias) varia continuamente de baixa a alta;
Positivamente correlacionados com aptidão física;	Muito positivamente correlacionados com aptidão física;
	Movimento corporal planejado, estruturado e repetitivo;
	Objetivando melhorar ou manter os elementos da aptidão física;

Tabela 1: Elementos de atividade física e exercício. Adaptada de CASPERSEN, et al., 1985.

No final do século XIX e início do século XX, estudos epidemiológicos demonstraram que indivíduos fisicamente menos ativos desenvolviam mais coronariopatias (MACAULEY, 1994). Desde então, a ideia de atividade física como fator promotor de saúde vem mostrando seu papel terapêutico, atuando na redução do peso corporal e dos riscos para doenças cardiovasculares, trazendo benefícios para alguns tipos de cânceres e para doenças emocionais como depressão e ansiedade (SUBRAMANIAN et al., 2013). No século XXI, a *World Health Organization* (WHO,OMS) publicou um guia de recomendações globais sobre atividade física para a saúde, em que forneceu informações sobre os benefícios da atividade física para populações de crianças e pessoas jovens (5-17 anos de idade), adultos (18-64 anos de idade) e idosos acima de 65 anos. Esse guia teve como foco principal a prevenção primária de doenças não comunicáveis (NCDs) através da prática de atividade física regular no nível recomendado de 150 minutos por semana de intensidade moderada (WHO, 2011).

Uma das recomendações de tratamento não invasivo e não farmacológico da obesidade encontra-se fundamentado na prática de exercícios físico. De fato, a atividade física tem sido referida para reduzir o peso corporal, adiposidade, aumentar o gasto energético e melhorar o estado geral metabólico de pacientes obesos (SORENSEN et al., 2010; TUOMILEHTO et al.,

2001; MISRA et al., 2008). Além disso, auxilia na melhora da dor crônica e inflamação sistêmica associadas com obesidade (PALEY & JOHNSON, 2016).

O exercício físico na obesidade atua de forma sistêmica influenciando a atividade de tecidos metabolicamente ativos como, por exemplo, o músculo esquelético, promovendo a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL1 β e MCP-1) e o aumento na produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL10. Além de aumentar a liberação do antagonista do receptor de Interleocina 1 (IL1RA), pode ainda inibir a ação do TNF- α (PEDERSEN et al., 2001), aumentar a angiogênese e reduzir o infiltrado de macrófagos (GOMEZ-MERINO et al., 2007; LIRA et al., 2009; PALEY & JOHNSON, 2016). Além disso, pode atuar nas células endoteliais, diminuindo moléculas de adesão e a inflamação da parede vascular, no sistema imune favorecendo a redução da expressão de TLRs e aumentando o número de células T regulatórias (PALEY & JOHNSON, 2016; YOU et al., 2013; McMURRAY & HACKNEY 2005).

Um estudo utilizando roedores obesos induzidos por dieta rica em ácidos graxos saturados mostrou supressão da sinalização do TLR4, redução da expressão desse receptor e melhora da sinalização e da sensibilidade a insulina no tecido muscular, fígado e tecido adiposo de animais submetidos ao exercício físico (OLIVEIRA et al., 2011). Assim, fica evidente que o treinamento físico tem impacto direto no estado de inflamação sistêmica decorrente da obesidade (PALEY & JOHNSON, 2016).

O hipotálamo é considerado um alvo do exercício físico, podendo provocar alterações morfofuncionais, interferindo na ingestão alimentar e no balanço energético (MORGAN et al., 2015). Estudos têm mostrado que o exercício físico tem papel importante nesse estado de neuroinflamação. Sendo assim, FLORES et al. (2006) e PATTERSON et al. (2009) mostraram que o exercício físico melhora a sensibilidade à insulina e leptina no hipotálamo de ratos obesos induzidos por dieta rica em ácidos graxos saturados, e, além disso, o exercício

induziu uma resposta anti inflamatória, reduzindo os níveis de PTP1B e suas interações com o substrato do receptor de insulina 1 (IRS1), uma proteína intracelular relacionada com a via de sinalização da insulina, e janus quinase 2 (JAK2), uma proteína intracelular relacionada com a via de sinalização da leptina, garantindo a melhora da sinalização e sensibilidade a esses hormônios no hipotálamo de roedores (CHIARRIOTTO-ROPELLE et al., 2013). Embora as bases moleculares do efeito da atividade física permaneçam obscuras, já se sabe que a prática do exercício pode modular a síntese de neuropeptídeos no hipotálamo de animais obesos, como o NPY e POMC (LAING et al., 2016), além de reduzir a atividade de IKK β , estresse do retículo endoplasmático e estimular a redução da ingestão de alimentos (ROPELLE et al., 2010).

Outro importante alvo do exercício físico no hipotálamo são as populações de células da glia. O exercício físico regular de intensidade moderada reduz a ativação da microglia no hipotálamo de animais alimentados com dietas ocidentais (YI et al., 2012). Em outro estudo, foi mostrado que a mudança da dieta hiperlipídica para uma dieta com menor quantidade de gordura, menos calórica e menos palatável, pode reverter ativação de células da glia, marcada pela elevada expressão de GFAP, no núcleo arqueado de roedores (BERKSETH et al., 2014). Desta maneira, o exercício físico tem impacto nos mediadores inflamatórios sistêmicos e hipotalâmicos, e apresenta um papel importante na atividade celular, atuando em processos de proliferação, morte celular e plasticidade celular.

3. OBJETIVOS

3.1-Objetivo geral

Estudar os efeitos do exercício aeróbico de intensidade leve (50% da carga máxima alcançada no teste incremental) a moderado (80% da carga máxima alcançada no teste incremental) sobre dados fisiológicos e no hipotálamo de animais alimentados com dieta hiperlipídica.

3.2-Objetivos específicos

Comparar o efeito do treinamento físico em animais alimentados com dieta hiperlipídica sobre:

- A glicemia, a adiposidade e peso corporal
- Comparar o efeito do exercício físico sobre a ingestão calórica
- Analisar a reatividade astrocitária pela expressão da proteína GFAP
- Analisar a densidade sináptica
- Estudar a ativação do receptor TLR4 e IL6
- Analisar a morte neuronal

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1-Animais e Dieta Hiperlipídica

Foram utilizados (96) camundongos *Swiss* machos acomodados no biotério da Universidade Federal de Uberlândia (CEBEA, CEUA protocolo 063/11), em condições de temperatura (22 ± 1 °C), ciclo claro/escuro de 12 em 12 horas invertido, com água e ração padrão para roedores *ad libitum*. Após cinco semanas de vida, os animais foram divididos nos grupos experimentais e mantidos em experimentação por 16 semanas, sendo que nas oito últimas semanas os grupos nomeados como placebo, exercício 50% e exercício 80% iniciaram o período de atividade aquática em aquário (Figura 4).

Para os grupos alimentados com dieta hiperlipídica (HFD), foi oferecida uma ração rica em ácidos graxos saturados contendo 35% de lipídios (DE SOUZA et al., 2005), e para cada quilo de HFD o valor em quilocalorias correspondido foi de 5.358 kcal. Para a dieta padrão (ND) de roedores a quantidade de lipídios foi de 10% e seu valor energético de 3.948 Kcal para cada quilo (ROPELLE et al., 2010). As composições das dietas são mostradas na Tabela 2, e a composição do mix de minerais e vitaminas, nas Tabelas 3 e 4.

Ingredientes	Controle (g)	Hiperlipídica rica em saturados (g)
Amido	467,5	115,5
Caseína	200,0	200,0
Amido de Milho dextrinizado	132,0	132,0
Sacarose	100,0	100,0
Óleo de soja	40,0	40,0
Banha de porco	-	312,0
Celulose microfibras (fibra)	50,0	50,0
Mistura de minerais	35,0	35,0
Mistura de vitaminas	10,0	10,0
L-cistina	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5
Total	1000,0	1000,0

Tabela 2: Composição da dieta controle (ND) e da dieta hiperlipídica rica em ácidos graxos saturados (HFD).

MIX de MINERAIS AIN 93 M	
Elementos Minerais Essenciais	1000 (g)
Carbonato de Cálcio anidro(40,04% Ca)	357
Fosfato de potássio monobásico(22,76% P; 23,73% K)	196
Citrato de potássio tribásico monohidratado(36,16% K)	70,78
Cloreto de sódio(39,34% Na; 60,66% Cl)	74
Sulfato de potássio(44,87% K; 18,39% S)	46,6
Óxido de magnésio(60,32% Mg)	24
Citrato férrico(16,5% Fe)	6,06
Carbonato de zinco(52,14% Zn)	1,65
Carbonato manganoso(47,79% Mn)	0,63
Carbonato cúprico(57,47% Cu)	0,3
Iodato de potássio(59,3% I)	0,01
Selenato de sódio anidro(41,79% Se)	0,01025
Paramobilidato de amônio 4H ₂ O(54,34% Mo)	0,00795
Elementos Minerais Potencialmente Benéficos	
Metassilicato de sódio 12H ₂ O	1,45
Sulfato de crômio e potássio 12H ₂ O (%)	0,275
Cloreto de lítio(16,38% Li)	0,0174
Ácido bórico(17,5% B)	0,0815
Fluoreto de sódio(45,24% F)	0,0635
Carbonato de níquel(45% Ni)	0,0318
Vanadato de amônio(43,55% V)	0,0066
Sacarose	221,026

Tabela 3: Mix de minerais (REEVES et al., 1993).

Mix de Vitaminas AIN 93 M	
Elementos Vitamínicos Essenciais	1000(g)
Ácido nicotínico	3
Pantotenato de cálcio	1,6
Piridoxina-HCl	0,7
Tiamina-HCl	0,6
Riboflavina	0,6
Ácido fólico	0,2
d-Biotina	0,02
Vit B12 0,1% (cianocobalamina) em manitol	2,5
Vit E (acetato de α-tocoferol) (500 UI/g)	15
Vit A(retinil palmitato) (500.000 UI/g)	0,8
Vit D3(colecalciferol) (400.000 UI/g)	0,25
Vit K(filoquinose)	0,075
Sacarose	974,655

Tabela 4: Mix de vitaminas (REEVES et al., 1993).

4.2-Animais e Treinamento Físico

O aquário utilizado para o treinamento da natação teve as seguintes dimensões: altura do aquário 280 mm, altura da coluna de água 18mm, comprimento 900 mm e largura 300 mm, divididos em 12 compartimentos de dimensões 150 x 150 mm, a fim de alojar cada camundongo individualmente (adaptado de EVANGELISTA et al., 2003; Figura 4). As sessões de treinamento foram realizadas durante o ciclo escuro, compreendido entre as 7:00 às 19:00, com temperatura da água variando na faixa de $32 \pm 3^{\circ}\text{C}$, protegendo os animais de efeitos hipotérmicos (EVANGELISTA et al., 2003; ANDREAZZI et al., 2009). O exercício teve duração de 1hr/dia e 5 dias/semana, durante 8 semanas, sendo a primeira semana de natação livre por 10 minutos com finalidade de familiarização dos animais com o novo ambiente. Após cada sessão de natação os animais foram secados individualmente utilizando uma toalha.

Após a primeira semana, os animais foram submetidos ao teste de carga progressiva semanalmente, aos sábados, que consistiu em um acréscimo crescente de carga de trabalho correspondente a 2% do peso corporal adicionados a cada 3 min até a exaustão, momento caracterizado pela submersão do animal e consequente mudança no padrão de natação, e que após 4 segundos de exaustão o animal era retirado do tanque. As intensidades do exercício do treinamento de resistência a seguir foram fixadas em 50% e 80% da carga máximo obtido no teste progressivo (ALMEIDA et al., 2009).

Semanalmente, o peso corporal e a ingestão alimentar dos animais foram aferidos para análise de algumas respostas diante das diferentes situações experimentais. O grupo nomeado como placebo, foi submetido ao mesmo protocolo de exercício físico, porém, sem nenhuma carga de trabalho, representando o efeito estressor do exercício físico. Ainda, o tecido adiposo visceral e periepídimal foram extraídos para pesagem e comparação entre os grupos.

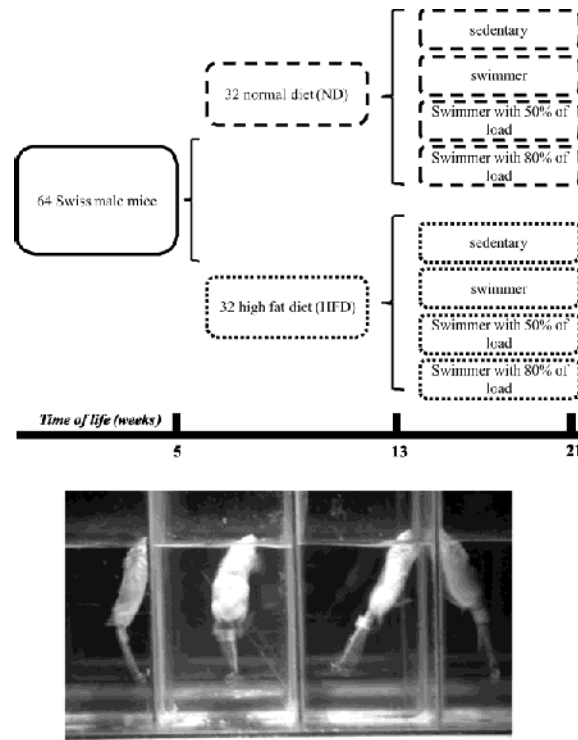


Figura 4: Grupos e aquário com atividade de natação dos camundongos.

4.3-Coleta das Variáveis Fisiológicas

Durante as 16 semanas de experimento, semanalmente, foram coletados os pesos corporais (em gramas) de cada animal e foi aferido o valor de alimento ingerido (em gramas).

O nível glicêmico foi aferido antes e depois das oito semanas finais.

4.4- Extração, Inclusão e Corte Histológico do Tecido

Para eutanásia, os animais foram anestesiados com uma mistura de diazepam, cetamina e xilazina (1:2:2). Após perda dos reflexos corneano, pedioso e caudal, os animais foram perfundidos transcardiacamente com 25 ml de solução salina tamponada para lavagem dos vasos sanguíneos. Seis animais de cada grupo foram infundidos com 20 ml de solução fixadora de formaldeído 4% em PBS 0,1M, pH 7,4. Em seguida, o tecido adiposo visceral (gordura perirrenal, mesentérica e periepididimal) foi extraído para mensuração (em gramas) e análise morfométrica da área dos adipócitos, e, o cérebro dos animais foi extraído e mantido

por 24-48 horas em formalina 4% em temperatura de 4°C. Após este período, o material foi reduzido (seccionado) à região de interesse (hipotálamo, compreendido pelo diencéfalo) e colocado em cassetes, e armazenado em álcool 70% para posterior submissão ao protocolo de desidratação, diafanização e parafinização.

Sequencialmente ao emblocamento, o tecido foi cortado em micrótomo com 5µm de espessura, identificando a região de interesse e visualizando de tempos em tempos no microscópio se o corte apontava para a região desejada. Localizada a região hipotalâmica ideal, foi realizada a captura em lâminas tratadas e colocadas as lâminas na estufa a 60°C por aproximadamente 3 horas, para fixar o tecido nas lâminas e retirar parte do excesso de parafina.

Para o tecido adiposo, os mesmos foram também seccionados a 5µm de espessura, alocados em lâminas, corados em HE e analisados em microscópio de luz para mensuração da área dos adipócitos.

4.5-Imunofluorescência

Após desparafinização e hidratação, os cortes foram lavados 3 vezes durante 5 minutos com PBS 0,1M pH 7,4. Após recuperação antigênica utilizando tampão citrato por 20 min em banho úmido vaporizado, os espécimes foram tratados por 10 min com Triton a 2% em PBS 0,1M pH 7,4. Em seguida, foi realizado bloqueio por 1 hora de ligações inespecíficas do anticorpo com BSA 5% em PBS 0,1M pH 7,4 e incubação *overnight* a 4°C com o anticorpo primário. Foram utilizados os seguintes anticorpos primários: cabra anti-GFAP, santa cruz 1:100; camundongo anti-sinaptofisina, abcam 1:200; coelho anti-IL6, santa cruz 1:100; rato anti-TLR4, santa cruz 1:100. Após aproximadamente 12h, os espécimes foram lavados com PBS e iniciado a marcação com anticorpo secundário conjugado com Alexa-fluor 488 ou 594nm (Jackson Lab, 1:200) por 1 hora. Foram feitas três lavagens com PBS e utilizado

glicerol para montagem das lâminas. Feito isso, prosseguiu-se com a leitura em seguida ou em até 5 dias e, por fim, as lâminas foram à 4°C protegendo-as da luz.

As regiões dos núcleos arqueado, paraventricular e lateral do hipotálamo foram então fotografadas com câmera fotográfica digital acoplada ao microscópio de fluorescência. Foi quantificada a imunomarcação através da densidade integrada de pixels utilizando o software *ImageJ 1.33u*.

4.6- Coleta de Sangue, Extração Total de Proteínas e Western Blotting

Dos outros seis animais de cada grupo, foram coletados 500µl de sangue periférico que foi imediatamente centrifugado para separação do plasma, sendo o plasma congelado em ultrafreezer para posterior dosagem de citocinas pelo método CBA. Além disso, foi extraído o hipotálamo para extração de proteínas totais. Para tanto o tecido foi misturado com tampão Cell Lysis contendo inibidores de proteases (Coquetel - Sigma) e triturado obtendo um homogeneizado. Os hipotálamos homogeneizados foram deixados reagindo por 40 min a 4°C. Então, as amostras foram centrifugadas a 11.000 RPM durante 40min a 4°C e os sobrenadantes foram coletados e congelados para os ensaios posteriores de *blotting*, citometria e análise da quantidade de caspase.

Foi realizada dosagem de proteínas totais utilizando o método Bradford, que forneceu a quantidade precisa de proteínas presentes em cada amostra. Após quantificação das proteínas, foi realizada a eletroforese (corrida das proteínas) em gel de poliacrilamida (10%). Foi adicionado às amostras o tampão da amostra (Laemmli *sample buffer* – na proporção de 1:1, contendo β-mercaptoetanol 5%) e em seguida as amostras com o tampão foram fervidas a 95°C durante 5 minutos. No gel de acrilamida foram aplicadas as amostras em volumes de acordo com a concentração protéica desejada e padronizada pelo método de *Bradford* e 5µL do marcador de Peso Molecular (Sigma). Em seguida, as proteínas foram separadas em SDS-

PAGE 10% e, após a corrida de eletroforese as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose, onde posteriormente foi feito bloqueio de ligações inespecíficas do anticorpo, utilizando uma solução bloqueadora contendo leite em pó desnatado 5% por 2 horas em temperatura ambiente sob agitação contínua. Depois disso, foi realizada a lavagem das membranas (três vezes durante 10 minutos), utilizando a solução TBST (10 ml de Tris-HCl 1M, 30 ml de NaOH 5M e 500µl de Tween-20). Posteriormente, as membranas foram incubadas por 12 h em geladeira sob agitação contínua com solução (leite 3% em TBST) e os seguintes anticorpos: anti-GFAP, santa cruz 1:1000 e cabra anti-actina, santa cruz 1:1000. Findo o tempo de incubação com anticorpo primário, foi realizado lavagem da membrana, como mencionado anteriormente e incubação com solução de anticorpo secundário conjugado com peroxidase, na diluição de 1:1500 por membrana durante 2 horas na temperatura ambiente, sob agitação contínua. Feito isso, as membranas foram lavadas novamente e incubadas instantaneamente com solução de quimioluminescente (*Western Lightning-ECL*, PerkinElmer, Inc.) na proporção de 1:1 de cada reagente do kit. Para aquisição das imagens foi utilizado o sistema de imagens *Amersham Imager (AI600-GE Healthcare Life Sciences)* e quantificação através da área de densidade de pixels utilizando o software *ImageJ 1.33u*.

4.7-Citometria de Fluxo Pelo Sistema Fluorimétrico com Microesferas Fluorescentes (Cytometric Bead Array-CBA)

As citocinas foram quantificadas utilizando-se o kit de citocinas Th1, Th2 e Th17 de camundongo BD *Cytometric Bead Array (CBA)*, que emprega uma mistura de esferas de poliestireno, de intensidades de fluorescência discretas e distintas, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas. Essa metodologia permite a avaliação simultânea de diversas moléculas solúveis no mesmo ensaio, empregando pequenos volumes de amostra. Para a reação, 25µl da mistura de esferas de captura, marcadas com anticorpos monoclonais

específicos para cada citocina estudada foram transferidas para tubos de 12x75mm destinados ao controle negativo e às amostras (25µg de proteína e 25 µL de plasma) a serem testadas. Em seguida, 25µl do diluente G e das amostras a serem testadas foram adicionados aos seus respectivos tubos. Logo depois, foram adicionados 18µl do coquetel de anticorpos monoclonais de camundongos marcados com PE (Mouse Inflammation PE Detection Reagent). Os tubos foram incubados por 3 horas, à temperatura ambiente (TA) e ao abrigo da luz. Após a incubação, as esferas de captura foram lavadas com 500µl da solução tampão PBS (Tampão Fosfato Salínico) e centrifugadas a 400 g, por 7 minutos. Cuidadosamente, o sobrenadante foi aspirado e descartado, restando aproximadamente 100µl em cada tubo. As amostras foram levadas para leitura no citômetro de fluxo.

Para aquisição dos dados das amostras, o aparelho foi ajustado utilizando o *BD FACSComp Software* e o *BD Calibrate Beads*. O objetivo do ajuste do aparelho consiste em definir os parâmetros de tamanho (*Foward Scatter –FSC*) e granulosidade (*Side scatter- SSC*). Após a seleção das esferas, procede-se o ajuste da intensidade da Fluorescência 3 (FL3) para permitir a segregação das esferas policromáticas, apresentando diferentes intensidades de fluorescência, em histogramas unidimensionais. Para cada tubo processado foram adquiridos 1800 eventos dentro da região selecionada R1 que equivale a 300 eventos por citocina testada. Após leitura, a análise do perfil de citocinas foi feita seguindo o protocolo proposto pelo fabricante através da utilização do *BD CBA Analyses Software* com auxílio do Microsoft Excel. O programa *BD CBA Analysis Software* faz a seleção automática da região das esferas de captura em gráficos de tamanho versus granulosidade. Em seguida, o programa separa as esferas em função da intensidade da FL3 e analisa o deslocamento das esferas em função da intensidade da fluorescência 2 (FL2) em gráficos bidimensionais de FL2 versus FL3. A ligação da citocina presente na amostra de interesse à esfera de captura e a revelação da ligação através do uso de um coquetel de anticorpos monoclonais anti-citocinas de

camundongos marcadas com PE pode ser evidenciado através do deslocamento do conjunto de esferas para a região de maior intensidade de fluorescência em relação ao tubo controle negativo, sem soro de camundongo. Os valores correspondentes à intensidade média de fluorescência FL2 na escala logarítmica foram utilizados como a unidade de análise semi-quantitativa para cada citocina analisada. Os valores foram expressos em pg/mL e intensidade média de fluorescência (MFI). No presente trabalho, as análises foram feitas utilizando os valores de MFI transformados em pg/ml.

4.8- Estudo da Atividade das Caspases 3 e 7

A atividade proteolítica das caspases 3 e 7 foi mensurada por ensaio de fluorescência, utilizando o kit Apo-ONE® Homogenous Caspase 3/7 Assay, de acordo com as especificações do fabricante (Promega, USA). O fundamento da técnica consiste na propriedade que as caspases 3 e 7 exibem em clivar o sítio c-terminal do resíduo de aspartato da sequência DEVD (Asp-Glu-Asp). Desse modo, o kit fornece o substrato para a atividade das caspases 3 e 7 ligado à fluoresceína rodamina 110 (Z-DEVD-R110) que, em contato com as amostras contendo as enzimas, exibe fluorescência, a qual é lida em leitora de microplacas no comprimento de ondas de 595 nm. O experimento foi realizado em duplicata, utilizando 25 µg de proteína total de cada grupo.

4.9- Análise Estatística

Após o estudo de normalidade e distribuição das amostras numéricas, foi realizada análise estatística adequada utilizando o software BioStat 5.0. Para dados normais e paramétricos foi escolhido o teste de variância Anova 2 critérios para as com pós teste de comparação de médias Bonferroni. Para dados não paramétricos, utilizou-se o teste U de Mann Whitney, considerando nível de significância para $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1-Peso Corporal e Tecido Adiposo Visceral

No início do período experimental, na quinta semana de vida, os pesos corporais de todos os animais foram semelhantes entre os indivíduos com média de 29,85g, e, após as 16 semanas de experimento, todos os grupos mostraram aumento do peso corporal em relação à situação inicial ($p < 0.05$, teste t pareado, gráfico não apresentado). Após as primeiras oito semanas de ingestão de dieta hiperlipídica (HFD), os animais apresentaram seu peso corporal em torno de 20% mais elevado do que os animais que foram alimentados com dieta padrão (Figura 5A). Decorridas as oito semanas com a prática da natação, os animais com HF ainda mostravam maior peso comparado aos grupos alimentados com ND, dentre esses, apenas os grupos que praticaram natação com carga de 80% da carga máxima atingida no teste incremental apresentaram pesos semelhantes para os diferentes padrões de dieta ingerida (Figura 5B).

Quando olhamos para a variação do peso corporal durante as oito semanas de exercício (peso da 16ª semana – peso da oitava semana), percebemos o maior incremento de peso para os grupos sedentários, placebo e exercício 50%, principalmente, quando alimentados com alto teor de gordura na dieta (Figura 5C). Ainda, utilizando-se o mesmo gráfico, notamos que a atividade de natação com maior carga de trabalho foi eficiente para manutenção do peso corporal em ambos os tipos de dietas consumidas.

Os animais dos grupos alimentados com HFD tiveram maior quantidade de tecido adiposo quando comparados aos grupos da ND independentemente do tipo da atividade realizada (Figura 5D). A prática da natação com carga de 50%, para os animais que se alimentaram com ND, conseguiu diminuir significativamente a adiposidade (massa de tecido adiposo relativo ao peso total corporal do animal) em relação aos demais grupos alimentados

com a mesma dieta. Para os animais que consumiram a HFD, a prática de exercício com carga mais intensa mostrou uma tendência de redução do acúmulo de tecido adiposo, mas sem apresentar diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O mesmo foi verificado para a análise morfométrica da área média dos adipócitos de cada grupo (Figura 5E).

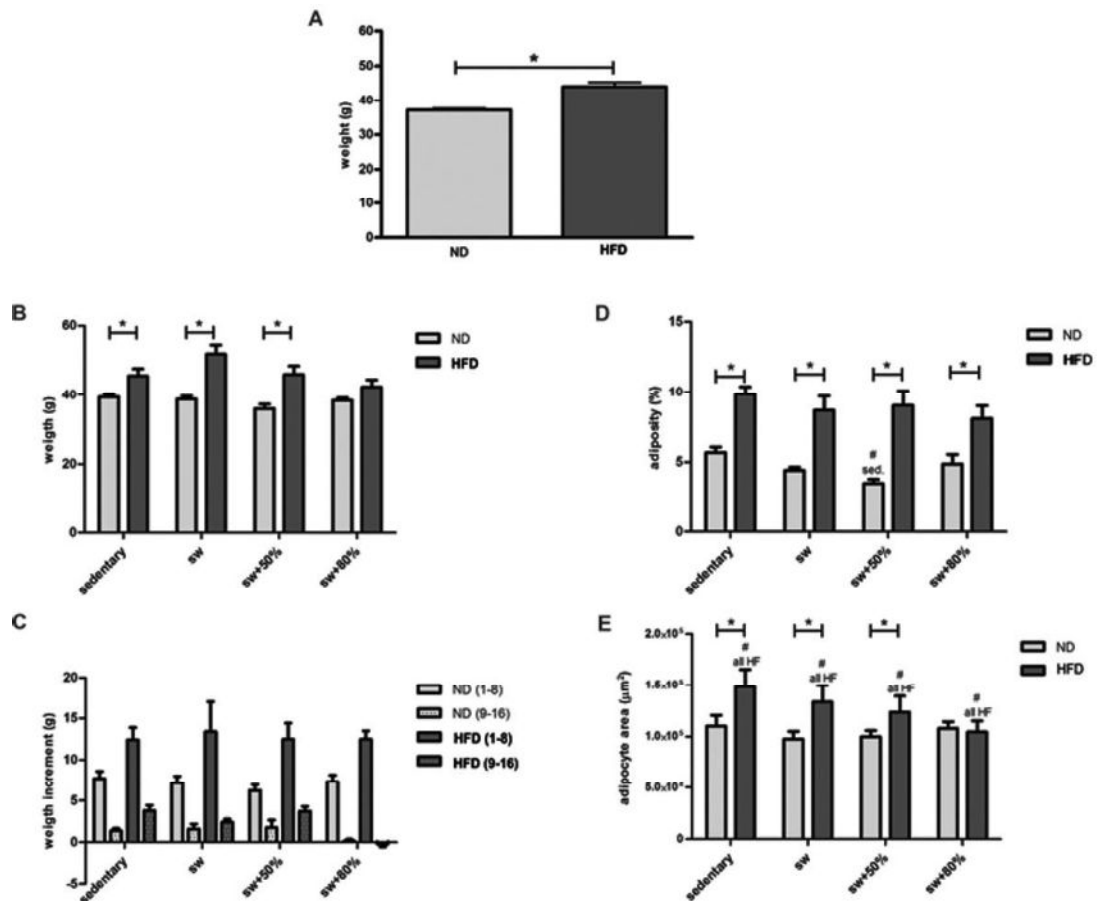


Figura 5: Evolução do peso corporal (em gramas, g) dos grupos dieta normal (ND), dieta hiperlipídica (HFD), placebo (PL), treinados com 50% da carga máxima (50) e treinados com 80% da carga máxima (80). **A-** peso após oito semanas com diferentes alimentações. **B-** peso ao final do experimento. **C-** variação do peso corporal durante as oito semanas finais do experimento, em que alguns grupos praticaram exercício. **D-** adiposidade. **E-** área média do adipócito. Em a, b e c teste Anova com pós-teste de Bonferroni; em d e e, teste U de Mann Whitney. (*) diferença estatística significativa entre os tipos de dieta e (#) diferença estatística significativa entre os tipos de atividade.

5.2-Ingestão Alimentar e Glicemia

Calculou-se a ingestão calórica para os grupos, nas primeiras oito semanas de experimento (Figura 6A) e após a inserção das diferentes atividades (Figura 6B). Os animais alimentados com HF consumiram, semanalmente, em média de 30% menos calorias de ração em relação aos animais que ingeriram ND, sendo esse comportamento mantido nos períodos anterior e posterior à inserção das atividades. Durante as oito semanas com treinamento de natação, a carga de 80% foi capaz de reduzir significativamente a quantidade ingerida de ambos os tipos de dieta em relação aos demais grupos.

O índice glicêmico foi mensurado em três momentos: inicial ao experimento, após oito semanas e ao final do experimento. A glicemia inicial foi em média 100 mg/dL de sangue para todos os animais (gráfico não apresentado). Na sequência, após as oito semanas da inserção das dietas, observou-se que a HFD induziu o aumento significativo do nível glicêmico em 38% comparado aos animais que comeram dieta padrão (Figura 6C). Após mais oito semanas de dieta e natação, houve redução da glicemia apenas no grupo HFD treinado com 80% de carga máxima de trabalho, enquanto o grupo sedentário e placebos alimentados com maior quantidade de gordura continuaram apresentando incremento do nível do índice glicêmico (Figura 6D).

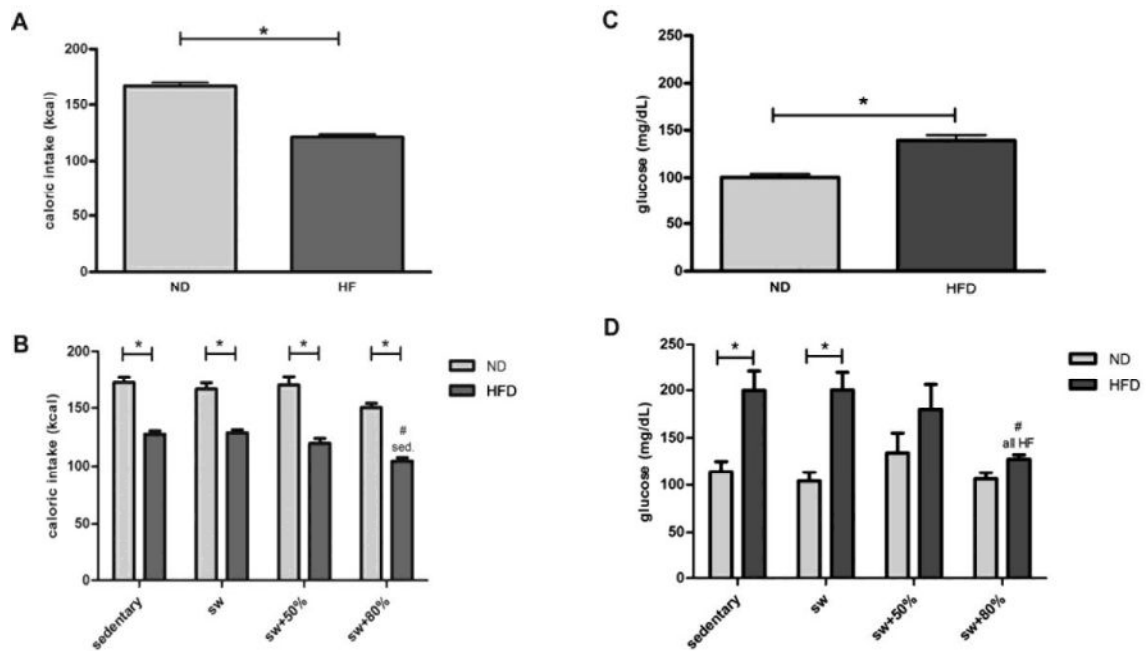


Figura 6: Ingestão calórica dos grupos dieta normal (ND), dieta hiperlipídica (HFD), placebo (PL), treinados com 50% da carga máxima (50) e treinados com 80% da carga máxima (80). **A-** nas oito primeiras semanas e **B-** nas oito semanas finais do experimento, em que alguns grupos praticaram exercício. **C-** Índice glicêmico em mg/dL de sangue nas oito primeiras semanas. **D-** Índice glicêmico nas oito semanas finais do experimento. Teste Anova 1 critério com pós-teste de Bonferroni. (*) diferença estatística significativa entre os tipos de dieta e (#) diferença estatística significativa entre os tipos de atividade.

5.3-Imunofluorescência: GFAP, Sinaptofisina, TLR4 e IL6

Na Figura 7, através da análise qualitativa das imagens, percebemos que os grupos alimentados com ND apresentaram semelhante marcação anti-GFAP para o núcleo arqueado do hipotálamo. Já os animais submetidos à HFD apresentaram relativamente uma marcação um pouco mais intensa nesse núcleo. O exercício físico não alterou a expressão protéica nos grupos alimentados com ND, porém, nos grupos tratados com HFD, o exercício físico mostrou uma tendência em reduzir a expressão dessa proteína, sendo maior redução no grupo exercitado com intensidade de 80%.

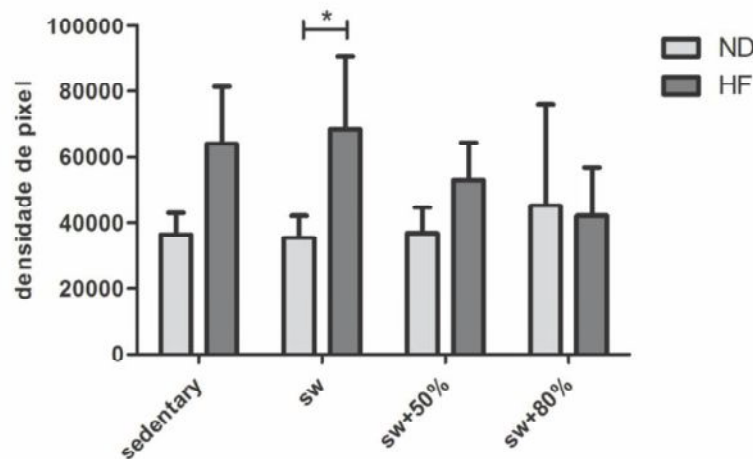
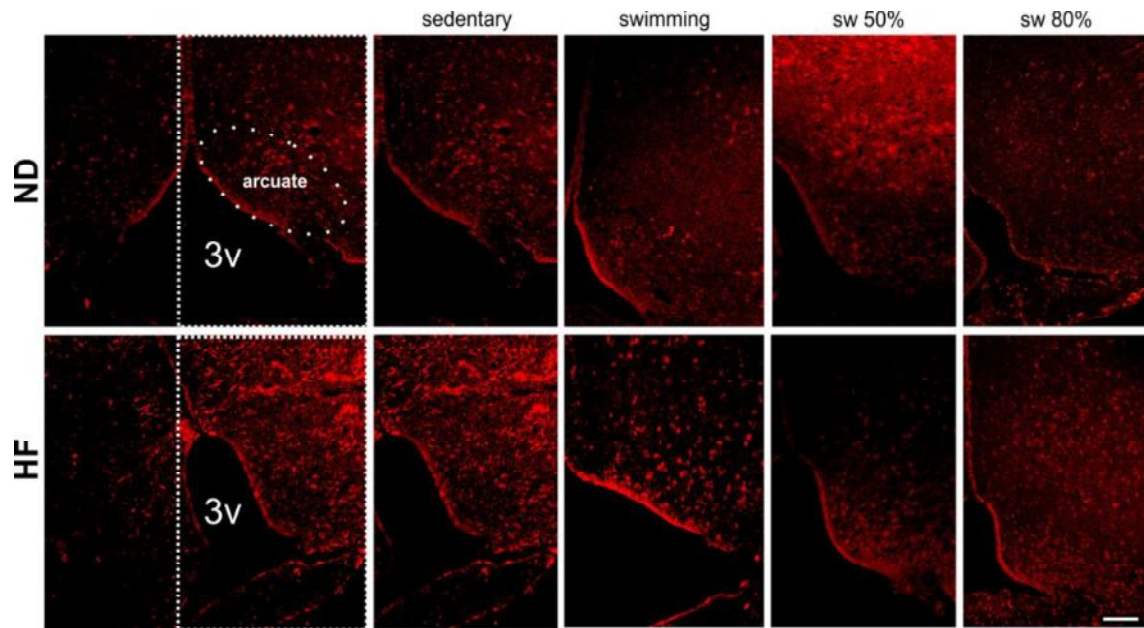


Figura 7: Imunomarcção anti-GFAP em corte histológico do hipotálamo. O quadrado pontilhado em branco destaca o lado em que foi medido a intensidade de pixel e o círculo pontilhado em branco indica a região do núcleo arqueado. O gráfico mostra as médias de cada grupo, considerando o nível de significância com $P < 0,05$. Escala = 50 μ m.

A imunomarcção anti-sinaptofisina informa sobre a densidade sináptica no núcleo arqueado do hipotálamo. Nesse sentido, animais alimentados com ND tiveram maior marcação para sinaptofisina em relação aos tratados com HFD, esse grupo, portanto, exibiu menor número de sinapses (Figura 8). A prática de atividade física mostrou uma recuperação

do número de sinapses traduzida pela maior expressão de sinaptofisina na região estudada comparando-se animais exercitados ND com HFD.

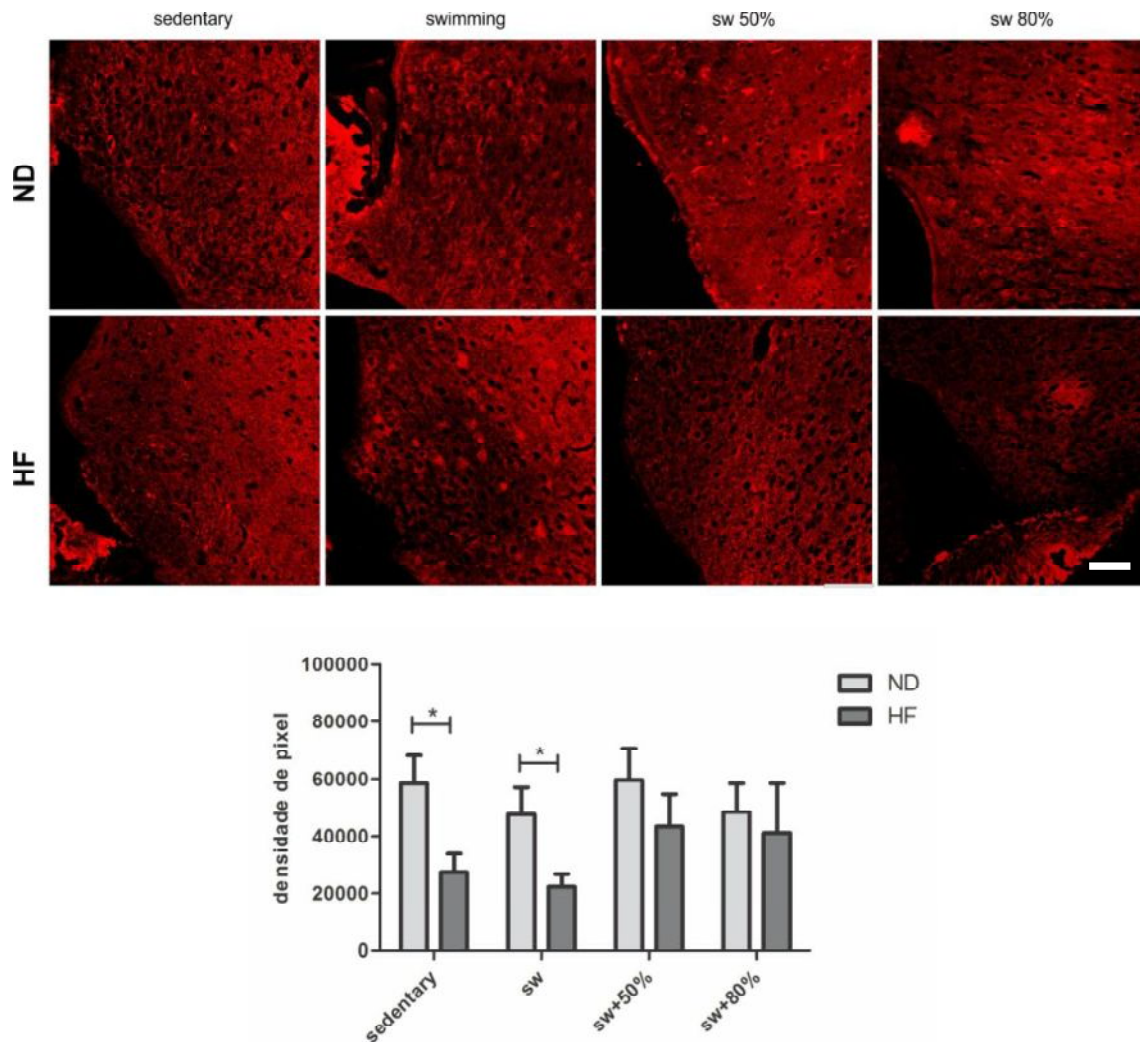


Figura 8: Imunomarcacão anti-sinaptofisina em corte histológico na região do núcleo arqueado do hipotálamo. O gráfico mostra as médias e se de cada grupo, considerando o nível de significância com $P < 0,05$. Escala = 50µm.

A expressão do receptor do tipo Toll (TLR4) foi maior nos grupos tratados com HF do que quando comparados aos grupos alimentados com ND. O exercício físico não foi capaz de reduzir significativamente a expressão desse receptor, porém houve uma tendência do

exercício em reduzir a expressão nos grupos que praticaram exercício físico com 80% da carga máxima (Figura 9).

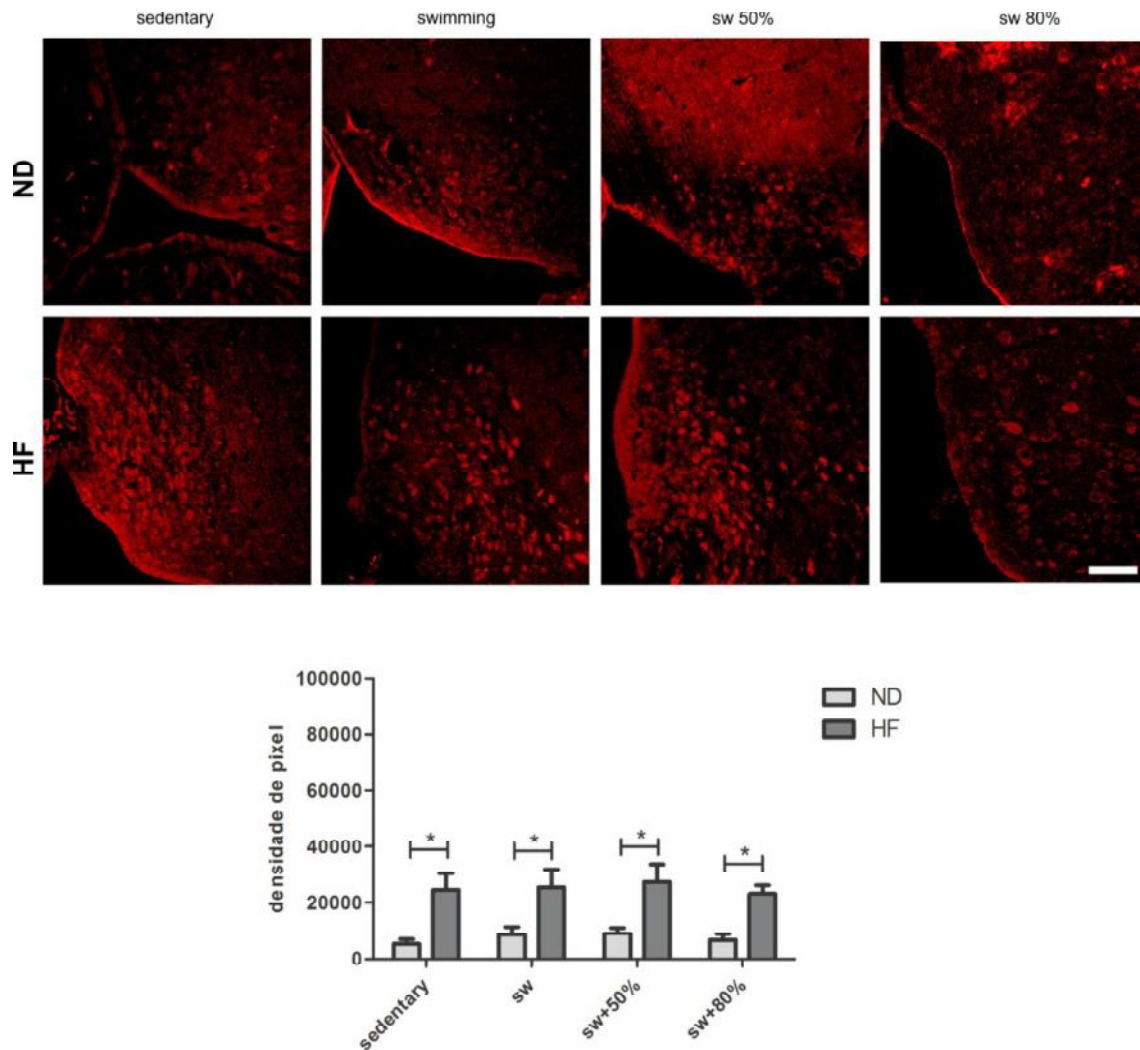


Figura 9: Imunomarcacão anti-TLR4 em corte histológico na região do núcleo arqueado do hipotálamo. O gráfico mostra as médias e se de cada grupo, considerando o nível de significância com $P < 0,05$. Escala = 50µm.

Nos grupos sedentários e exercício sem carga, a expressão de IL6 foi maior nos animais alimentados com HFD. Nos grupos exercitados, o exercício físico aumentou os níveis de IL6 nos animais alimentados com ND, sendo significativamente maior quando comparados com o grupo ND sedentário (Figura 10). O exercício físico aumentou a expressão de IL6 no hipotálamo dos animais alimentados com dieta normal. Nos grupos alimentados com HFD, o

exercício físico no grupo 80% HFD mostrou uma redução significativa de IL6, quando comparado com os níveis do grupo controle (Figura 10).

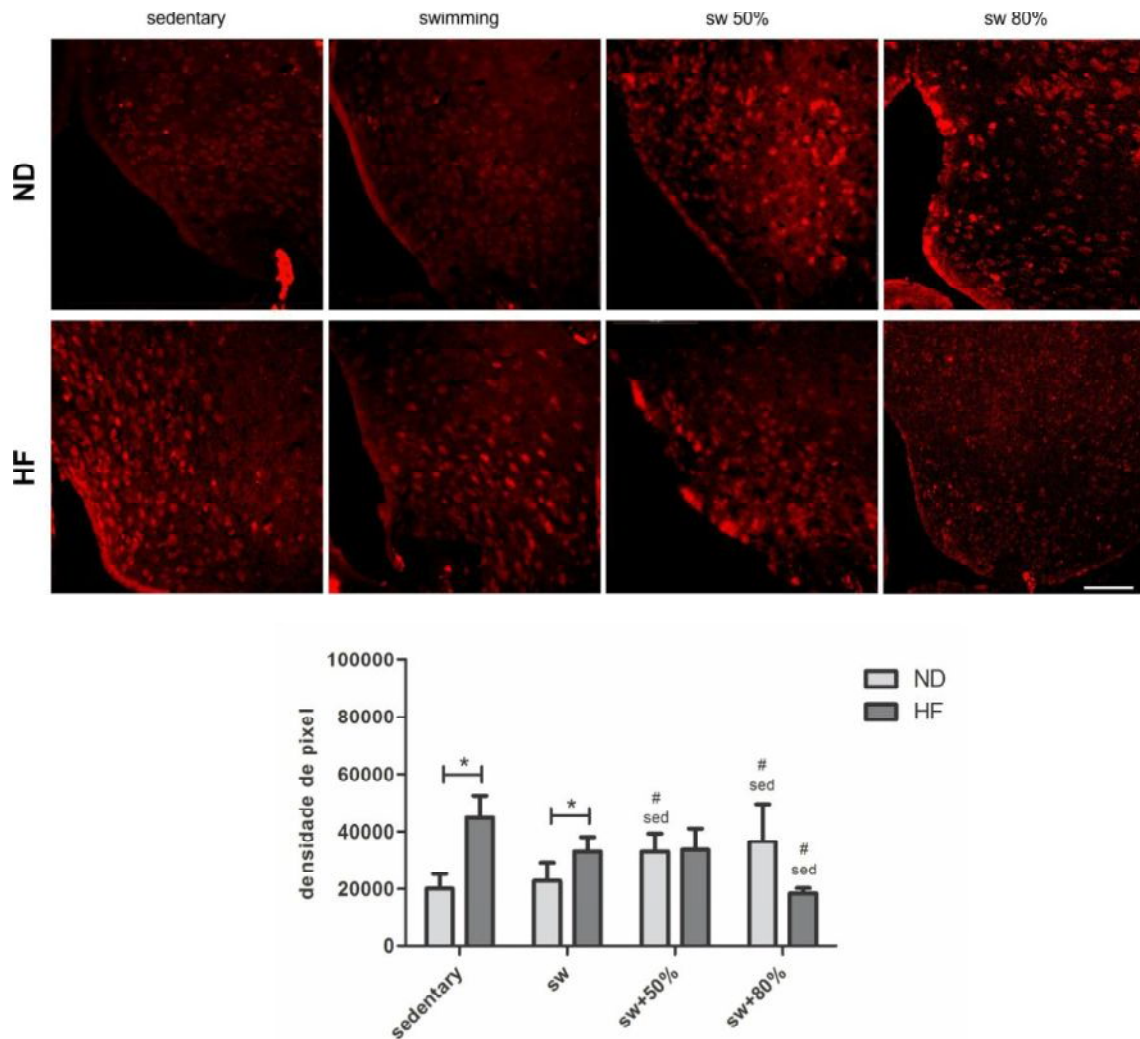


Figura 10: Imunomarcção anti-IL6 em corte histológico na região do núcleo arqueado do hipotálamo. O gráfico mostra as médias e se de cada grupo, considerando o nível de significância com $P < 0,05$. Escala = 50 μ m.

Os núcleos lateral e paraventricular do hipotálamo foram analisados e as quantificações são mostradas na Figura 11.

Não houve diferença significativa para a marcação anti-GFAP no núcleo lateral, entretanto, houve diferença significativa para o núcleo paraventricular entre os grupos ND e HFD sem atividade física com carga. Os demais grupos apresentaram resultados similares,

sendo maior expressão de GFAP para os grupos tratados com HFD, embora não foi significativa. A expressão da proteína sinaptofisina no núcleo lateral obedeceu ao mesmo padrão encontrado no núcleo arqueado, com maior expressão da proteína nos grupos treinados HFD. Adicionalmente, a imunomarcação para o receptor TLR4 mostrou que o exercício pode atenuar sua expressão especialmente no núcleo lateral. E o exercício foi o fator que aumentou a expressão da citocina IL6 de forma semelhante para os núcleos lateral e paraventricular em ambos os tipos de dieta.

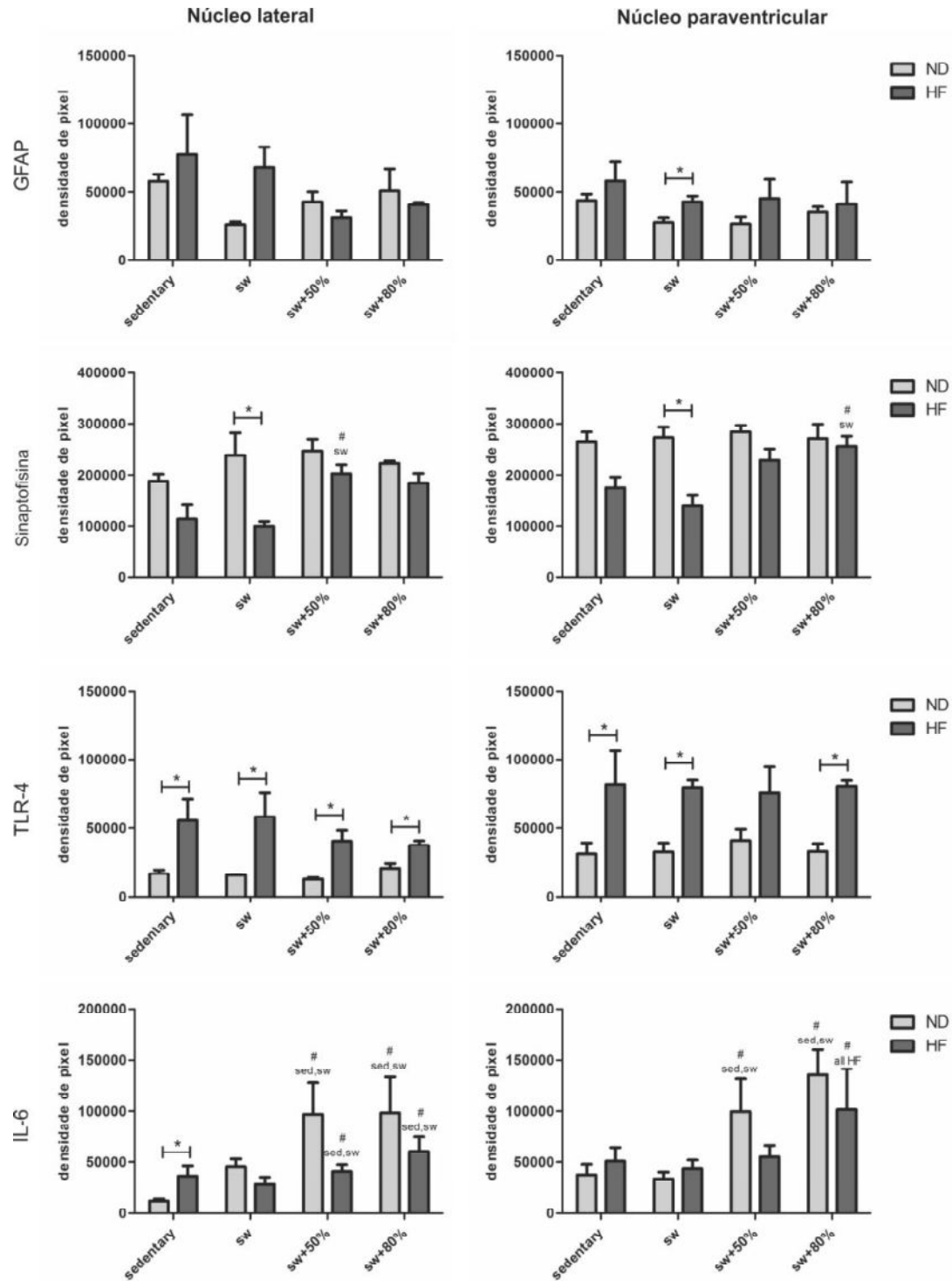


Figura 11: Gráficos das médias que mostram a intensidade de pixel das imunomarcações anti-GFAP, anti-sinaptofisina, anti-TLR4 e anti-IL6 em corte histológico nas regiões dos núcleos lateral (lado esquerdo) e paraventricular (lado direito) do hipotálamo. Considerando o nível de significância com $P < 0,05$.

5.4-Western Blotting para GFAP

A análise semi-quantitativa feita pelo método do *Western Blotting* foi realizada com os grupos sedentário, placebo e natação com 50% de carga por motivos de erros experimentais não foi possível a análise do grupo com 80% de carga. A Figura 12 mostra que houve um aumento da expressão da proteína GFAP nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica. O exercício físico não foi capaz de alterar a expressão da proteína GFAP hipotalâmica, contudo foi observada uma discreta tendência em reduzir sua expressão com o exercício físico. A proteína GFAP foi normalizada de acordo com a expressão do controle interno (actina).

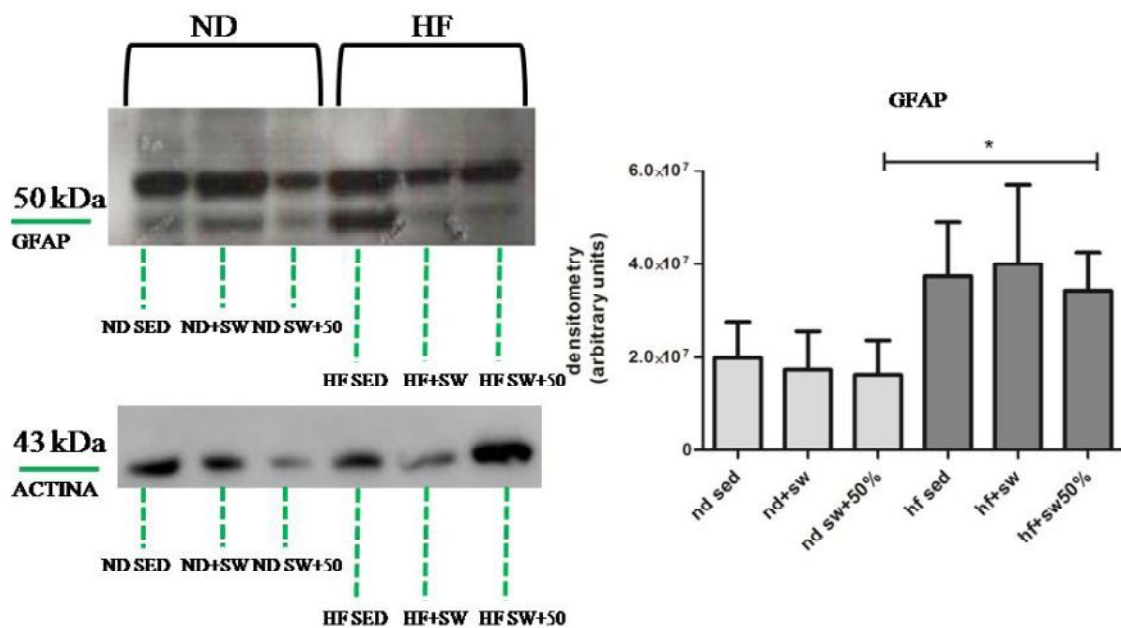


Figura 12: *Western Blotting* para proteína GFAP.

5.5-Citometria de Fluxo- Método CBA

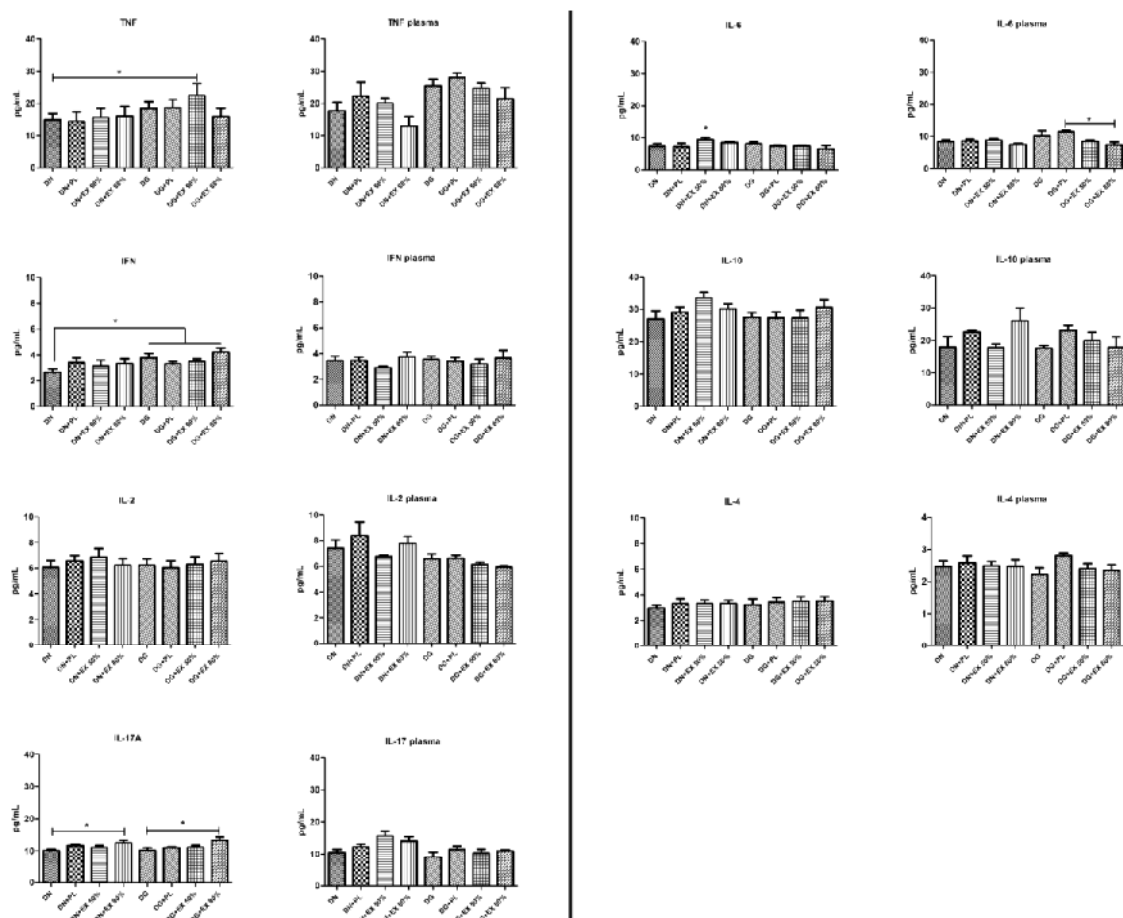


Figura 13: Método CBA de análise para perfil de citocinas Th1/Th2 e Th17 em hipotálamo (direita) e plasma (esquerda). Quantificação de TNF alfa, IFN gama, IL2, IL17A, IL6, IL10 e IL4.

A análise quantitativa da expressão de citocinas pelo método CBA mostrou que não houve diferença significativa importantes na expressão de interleucinas 2, 4 e 10 e na citocina IFN- γ tanto para o tecido hipotalâmico quanto para o plasma (Figura 13).

No hipotálamo, a expressão de TNF- α foi diferente entre os grupos HFD+EX 50% e DN SED, entretanto não houve diferença significativa na dosagem plasmática. Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os grupos alimentados com diferentes tipos de dietas e com diferentes tipos de atividade física, os dados mostram que houve uma tendência

ao aumento da expressão da citocina TNF- α nos grupos alimentados com dietas hiperlipídicas, e que a atividade física com intensidade de 80% da carga máxima pode atenuar a sua expressão no plasma e no hipotálamo.

A dosagem da citocina IL17 no hipotálamo revelou um aumento nos grupos exercitados com intensidade de 80% da carga máxima, tanto para os animais alimentados com dieta hiperlipídica quanto para aqueles alimentados com dieta padrão, quando comparados com os respectivos controles. Apesar de os níveis plasmáticos de IL17 não apresentaram diferença estatística entre nenhum grupo de qualquer tipo de dieta, o gráfico do plasma aponta uma tendência em aumento da expressão de interleucina 17 nos grupos praticantes de atividade física e alimentados com dieta normal.

Finalizando, a quantificação da citocina IL6 no hipotálamo mostrou que houve um aumento significativo apenas para o grupo DN+EX50%, para tanto, a expressão plasmática de IL6 foi significativamente maior no grupo HFD+PL quando comparado com grupo HFD+EX80%.

5.6-Análise Fluorimétrica da Atividade de Caspases 3 e 7

A Figura 13 mostra a análise fluorimétrica da atividade de caspase 3 e 7 hipotalâmica. Nesse caso foi necessário realizar um pool único por grupo com extrato protéico total do hipotálamo, por isso nossos resultados mostram apenas um resultado por grupo, não havendo média e erro padrão.

O grupo sedentário alimentado com HFD exibiu a maior fluorescência que indica maior expressão de caspase 3/7 de todos os grupos. Nos grupos alimentados com HFD, houve uma tendência em redução da fluorescência nos grupos de atividade física SW+50% e SW+80%, sendo mais evidente no grupo SW+50%. Para os animais alimentados com ND, a

fluorescência para todos os grupos foi parecida, com um discreto aumento nos grupos exercitados.

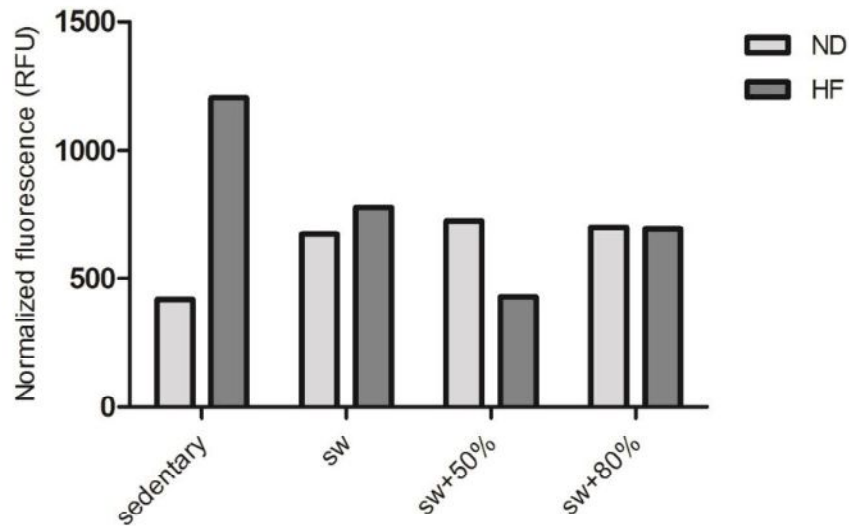


Figura 14: Ensaio fluorimétrico para mensuração da atividade da caspases 3 e 7 no hipotálamo de camundongos alimentados com dietas ND e HFD e submetidos a exercício físico com 50 e 80% de intensidade.

6. DISCUSSÃO

Segundo WILLET (1998) a alimentação hiperlipídica é um componente importante na etiologia da obesidade. Dentro desse contexto, pesquisadores começaram a mostrar a relação de dieta rica em gordura com hiperfagia (WEST & YORK, 1998; WESTERTERP et al., 2008), redução na atividade lipolítica do tecido adiposo, redução da sensibilidade à leptina, apoptose neuronal hipotalâmica (MORAES et al., 2009), prejuízo no metabolismo mitocondrial (POMPLUN et al., 2007) e resistência à insulina (De SOUZA et al., 2005). Todos esses fatores atuando conjuntamente e contribuindo com a doença.

Dentro desses aspectos, em nosso estudo, foi avaliada a ingestão alimentar e, em nossos resultados, não foi verificada a hiperfagia. Animais alimentados com dieta hiperlipídica (HFD) comeram em torno de 30% menos em calorias do que os animais alimentados com dieta padrão (ND). Esse fato reforça dados da OMS que reportam que a constituição da dieta está mais relacionada ao sobrepeso/obesidade do que a quantidade energética ingerida.

O excesso de gordura consumida é responsável pelo aumento da adiposidade. Estudos confirmam que dietas hiperlipídicas podem facilmente induzir à obesidade em humanos e em animais (HARIRI & THIBAUT, 2010). Segundo FLATT (1987) cada macronutriente possui um controle entre consumo e oxidação e, dessa forma, ocorre um estado de equilíbrio no organismo. Com as gorduras, esse ajuste é menos eficiente e o aumento no seu consumo na dieta não estimula proporcionalmente a sua oxidação. Além disso, a eficiência com que o lipídio da dieta é estocado como gordura corporal é alta, aproximadamente 96% (OMS, GHO, 2008b). Em nossos resultados, após oito semanas com as dietas, verificou-se aumento de peso corporal para todos os animais, lembrando que esse aumento era esperado já que utilizamos animais ainda em crescimento, a partir da quinta semana de vida. Porém, fato importante, foi a diferença de comportamento entre os grupos, sendo que o grupo alimentado com maior

quantidade de gordura apresentou um incremento de 20% a mais em seu peso corporal do que os animais do grupo ND.

Qualquer esquema terapêutico de combate ao excesso de peso deve compreender a prática de atividade física (KUSHNER, 2014). O *American College of Sports Medicine* (ACSM) defende que a perda de 5% a 10% do peso corporal já reduz substancialmente os riscos para saúde (ACSM, 2011). O protocolo de atividade física de natação mais intensa usado nesse trabalho foi o único que conseguiu efetivamente controlar o ganho de peso dos animais alimentados com dieta hiperlipídica. Os demais grupos, mesmo com dieta normal, aumentaram seus pesos em gramas (g). No entanto, vale destacar que estamos nos referindo ao peso corporal e não à quantidade de tecido adiposo do animal.

Para analisarmos se a variação do peso corporal refletiu a perda de adiposidade dos animais, o tecido adiposo visceral foi extraído e mensurado e, interessante, o grupo que apresentou menor quantidade de tecido adiposo foi o grupo ND com natação usando 50% da carga máxima. Em relação aos indivíduos que foram alimentados com HFD, todos apresentaram em torno de 50% mais tecido adiposo em relação aos animais ND. Dentre esses animais, os que nadaram com a carga de 80% mostraram uma tendência de redução da adiposidade corporal.

Sendo assim, nossos resultados contrariam o estudo de ROPELLE et al. (2010) que mostram que a prática crônica de exercício com protocolo similar induz redução significativa no tecido adiposo de animais obesos induzidos por dieta. Porém, vão ao encontro dos trabalhos de KAWANISHI et al. (2010) e KIZAKI et al. (2011) que mostraram como resultados o controle do ganho de peso apenas.

A prática de natação com 80 % da carga máxima foi eficiente para a manutenção do peso, redução da quantidade de alimentos ingerida e do nível glicêmico. No que se refere à carga máxima suportada por cada grupo durante o teste progressivo, foi observado que os

animais que trabalharam com 80 % da carga, suportaram 6,1 % e 5,9 % do peso corporal do ND e HFD animais, respectivamente. Alternativamente, animais sedentários, placebo e natação com 50 % de carga apresentaram resultados semelhantes, com uma média de 4,2 % e 4,1 % do peso corporal dos animais alimentados a ND e HFD, respectivamente. Durante as sessões de treinamento (1 h para 5 dias por semana), o grupo que nadou com 80 % de carga suportaram cerca de 5 % do seu peso corporal, enquanto o grupo com 50% de carga suportou cerca de 3% do seu peso corporal. Em conformidade com GOBATTO et al. (2009), cargas acima de 4 a 6% do peso corporal de camundongos nadadores representam a máxima fase de lactato, que por sua vez é considerada o padrão ouro para a determinação da transição entre exercícios aeróbicos e anaeróbicos. Sendo assim, pode ser dito que o exercício praticado com 80% da carga máxima foi mais intensa do que com 50%. No entanto, ambos permanecem em níveis de aerobiose.

Embora não foram demonstrados resultados suficientes para peso e adiposidade, tem sido provado que muitos benefícios são esperados com a prática regular de atividade física. Os efeitos positivos do exercício de intensidade leve a moderada para indivíduos com diabetes tipo 2, por exemplo, culminam na melhora da sensibilidade à insulina com conseqüente redução do nível glicêmico (SATO et al, 1996; ZINKER, 1999; LARSEN et al, 2014). Os resultados deste estudo indicam um aumento de 38 % no nível glicêmico após oito semanas com HFD. Após a introdução da natação, um aumento no nível glicêmico ainda foi observado para os indivíduos alimentados com uma HFD, exceto para animais que nadaram com uma carga de 80 %.

O consumo de dietas hiperlipídicas com alto teor de ácidos graxos saturados promove uma inflamação no hipotálamo comprometendo alguns circuitos neuronais, principalmente os núcleos que controlam a fome e saciedade causando apoptose neuronal e astrogliose (MILANSKI et al., 2009; MORAES et al., 2009; DE SOUZA et al., 2005;

VELLOSO, 2009; HORVATH et al., 2010; THALER et al., 2012; COOPE et al., 2016). Diante disso, nosso trabalho mostrou que animais, quando alimentados com dieta hiperlipídica, exibiram um aumento da reatividade astrocitária, marcado pela elevação da expressão de GFAP na região hipotalâmica, fato este que também foi mostrado por THALER et al. (2012).

Em nossos resultados, o exercício físico não reduziu a expressão de GFAP e restaurou ou protegeu as sinapses no hipotálamo de roedores obesos induzidos por dieta rica, verificado pela maior expressão de sinaptofisina nos animais treinados. De fato, o exercício físico pode induzir alterações morfológicas nos astrócitos presentes em regiões como o hipocampo (SAUR et al., 2012), córtex (KANG et al., 2016) e medula espinhal (PEREIRA et al., 2015), além de interferir na expressão de GFAP, reduzindo-a no hipocampo de animais alimentados com dieta hiperlipídica (KANG et al., 2016), porém, em nosso trabalho o exercício físico falhou em reduzir a expressão de GFAP no hipotálamos dos animais alimentados com HFD.

A redução da expressão de sinaptofisina nos grupos HFD tem relação direta com o processo de morte celular por apoptose em neurônios hipotalâmicos (MORAES et al., 2009; LAING et al., 2016). Em nossos resultados, um ensaio fluorimétrico para caspases 3 e 7 mostrou que os animais HFD exibiram uma maior expressão de caspase 3 e 7, e nosso protocolo de exercício de natação mostrou induzir uma ligeira redução das caspases principalmente no grupo SW+50% alimentado com dieta hiperlipídica. Assim, estes dados vão ao encontro de alguns trabalhos que têm mostrado que o exercício físico previne a elevação de caspase 3 de animais alimentados com dieta hiperlipídica (KANG et al., 2016) e reduz a apoptose no núcleo arqueado (LAING et al., 2016).

A morte celular induzida pelo excesso de lipídios ocorre via TLR4, conforme mostrado por MORAES et al. (2009). Em nosso trabalho foi mostrado que o consumo de dietas ricas em ácidos graxos aumenta a expressão de TLR4 na região do núcleo arqueado,

paraventricular e lateral. Entretanto, o exercício físico crônico não é capaz de reduzir a expressão desse receptor, como também mostrado por ROPELLE et al. (2010), em que dois protocolos de exercício físico, agudo e crônico, foram ineficientes para reduzir a expressão de TLR4 no hipotálamo de roedores obesos induzidos por dieta rica em ácidos graxos. No entanto, OLIVEIRA et al. (2011) conseguiram mostrar efeitos positivos para tecidos metabolicamente ativos, como fígado, músculo esquelético e tecido adiposo. Sendo assim, a redução da expressão de caspase 3 e 7 observada nesse estudo pode ter relação com redução de outra via indutora como, por exemplo, a expressão de citocinas próinflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α), capaz de ativar a via extrínseca da apoptose.

Nesse sentido, através do CBA, foi estudada a expressão de diversas citocinas, dentre as quais devemos destacar o TNF- α , a IL17A e IL6 que mostraram pequenas alterações com exercício e/ou dieta. Nesse contexto, verificamos aumento discreto, não significativo estatisticamente, nos níveis de TNF- α no hipotálamo e plasma de roedores obesos. Esse dado está de acordo com o conceito de inflamação de baixo nível ocorrido no desenvolvimento e manutenção da obesidade (SARTIPY & LOSKUTOFF, 2003; XU et al., 2003; PEREIRA & ALVARES-LEITE, 2014). Ainda, ARRUDA et al. (2011) observaram que animais tratados com baixas doses de TNF- α via intracerebroventricular apresentavam efeitos na redução da transdução do sinal da leptina com consequente aumento da massa corporal dos animais e redução da expressão gênica de neurotransmissores envolvidos no controle da saciedade e termogênese (POMC, TRH e CRH). O grupo HFD+EX 50% foi o grupo que mostrou o resultado significativo para a expressão de TNF e esse dado está de acordo com PEREIRA et al. (2015), que mostraram que a atividade física pode induzir aumento de inflamação hipotalâmica de forma transitória, marcado pelo aumento do nível de TNF- α . No entanto, os animais HFD com a carga de 80% mostrou uma tendência de redução do nível de TNF- α tanto no hipotálamo como no plasma, e, não por acaso, nesses mesmos animais, foram

observados os melhores efeitos para controle de peso, adiposidade, glicemia, astrogliose e morte celular.

O exercício físico induz numerosas alterações celulares e moleculares no hipotálamo, interferindo no balanço energético e no metabolismo celular (MORGAN et al., 2015). Além dessas alterações, o exercício físico crônico pode ainda contribuir com alterações no balanço entre citocinas antiinflamatórias e pro inflamatórias, redução do estresse oxidativo e atenuação da excitação simpática com alteração de neurotransmissores no núcleo paraventricular do hipotálamo de roedores hipertensos (AGARWAL et al., 2011). A IL17A, apesar de ser considerada uma citocina inflamatória (GAFFEN, 2009), no SNC, os astrócitos podem se tornar reativos e expressar IL17 que, nesse caso, terá papel antiinflamatório, atuando como fator de proteção contra apoptose de neurônios (HU et al., 2013). Em lesões características de acidente vascular isquêmico, a IL17A produzida por astrócitos pode atuar mantendo a sobrevivência e diferenciação de células precursoras neurais na zona subventricular e ainda promover sinaptogênese em fase tardia de recuperação da lesão. Desse modo, a IL17 pode ter um papel antiinflamatório no tecido neural quando exposto aos estímulos inflamatórios, como lesões por exemplo (LIN et al., 2016). Nesse sentido, o aumento de IL17A pode ter relação com a manutenção das sinapses observadas pela expressão de sinaptofisina mais elevada nos grupos praticantes de natação com carga.

As células da glia, em condições patológicas, são as principais células responsáveis pela produção de citocinas. Os astrócitos podem responder aos estímulos produzindo citocinas, como por exemplo, IL6, TNF- α e a forma induzida de INF γ (DONG & BENVENISTE 2001).

A interleucina 6 tem efeitos centrais na obesidade, resultando em alterações na massa adiposa visceral e no peso corporal de roedores alimentados com dieta hiperlipídica. Essa citocina quando administrada cronicamente via intracerebroventricular resulta em diminuição do peso corporal, da gordura visceral mesentérica e retroperitoneal (WALLENIUS et al.,

2002). Em nossos resultados, foi possível observar maior expressão hipotalâmica de IL6 nos grupos que fizeram exercício e consumiram ND, sendo que na dosagem pelo método CBA, apenas o grupo DN+EX 50% apresentou valor significativo. De forma interessante, houve uma diferença de resposta entre o núcleo arqueado, paraventricular e lateral, sendo que os dois últimos mostraram comportamento semelhante da elevação de IL6 frente ao exercício, para os diferentes tipos de dieta.

A maior expressão observada, no CBA e na imunofluorescência do núcleo arqueado, para animais obesos pode estar relacionada com outra fonte de IL6, no caso, o tecido adiposo hipertrofiado desses animais (MCARDLE et al., 2013). Nesse sentido, nossos dados mostram a maior expressão tanto periférica (plasmática) de IL6 como central (hipotálamo) para animais sedentários e placebos alimentados com HFD. Adicionalmente, o músculo esquelético também é produtor de IL6 e nesse caso denominada miocina com efeito anti inflamatório (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2012). Dessa forma, em animais submetidos ao exercício físico, tanto agudo quanto crônico, é observado um aumento da expressão de IL6 também no hipotálamo de roedores (ROPELLE et al., 2010; FLORES et al., 2006), como observado para os animais ND, com o aumento da intensidade do exercício observou-se aumento de IL6, sendo que o CBA confirmou esse resultado apenas para o grupo ND+50% de carga, porém, vale lembrar que para as dosagens que utilizaram extrato protéico, todo o hipotálamo foi utilizado para extração, enquanto, a imunofluorescência apresenta resultados locais, somente nos núcleos envolvidos com o circuito de controle da saciedade.

Considerando os dados da literatura esperaríamos um aumento ainda maior de IL6 nos animais HFD e treinados. Porém isso não foi observado. No entanto, vale destacar que os astrócitos são importantes produtores de citocinas, e, com a prática de natação, houve uma tendência em reduzir a expressão de GFAP não só nos núcleos analisados pela imunofluorescência mas no hipotálamo total, como identificado no resultado do *western*

blotting, essa tendência na redução traduz uma menor atividade dessas células, que por sua vez, condiz com uma menor produção de substâncias liberadas, como por exemplo a IL6. Por outro lado, esse fato não explica o porquê da maior expressão de IL6 nos núcleos paraventricular e lateral com a atividade física e com a dieta hiperlipídica, pois, detectamos aumento da citocina e ligeira redução de GFAP. Nesse caso, é visto que em diferentes regiões do cérebro podemos encontrar níveis diferentes de presença de IL6 em resposta ao exercício prolongado (RASMUSSEN et al., 2011; NYBO et al., 2002). Como foi vista na introdução do presente trabalho, o núcleo arqueado possui receptores que são sensibilizados por hormônios periféricos e a partir dos neurônios localizados nesse núcleo são gerados neuropeptídeos que sinalizam outros neurônios, os de segunda ordem, dos núcleos paraventricular e lateral. Nesse sentido, é plausível que esses três núcleos possam responder de forma diferente em relação à expressão de substâncias frente à HFD e exercício crônico.

7. CONCLUSÕES

O exercício físico do tipo natação SW80% teve maior influencia nos parâmetros fisiológicos, como redução da glicemia controle do peso corporal e adiposidade dos animais alimentados com dieta HFD, e no hipotálamo aparentemente reduzindo a reatividade da glia, protegendo as sinapses e células neurais sem alterar a expressão de TLR4 em animais alimentados com HFD, indicando ser uma ferramenta promissora para melhora do quadro neuroinflamatório e da morte celular provocada pela obesidade induzida por dieta, porém é necessário mais pesquisas para elucidar quais os mecanismos subseqüentes dos efeitos provocados pela prática de exercício físico no hipotálamo.

8. REFERÊNCIAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM), ACSM's Health and Physical Activity Reference Database (2011). Consultado em: <http://www.acsm.org/public-information/health-physical-activity-reference-database>. e

<http://www.lww.com/Product/9780781797801>.

ADABIMOHAB, R., et al. (2016). "Does Inflammation Mediate the Association Between Obesity and Insulin Resistance?" **Inflammation** 39(3): 994-1003.

AGARWAL, D., et al. (2011). "Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR." **Basic Res Cardiol** 106(6): 1069-1085.

AGUIRRE, V., et al. (2000). "The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307)." **J Biol Chem** 275(12): 9047-9054.

AKIRA, S. and K. TAKEDA (2004). "Toll-like receptor signalling." **Nat Rev Immunol** 4(7): 499-511.

ALDSKOGLIUS, H., LIU, L., SVENSSON, M. (1999). Glial responses to synaptic damage and plasticity. **J Neurosci Res**, vol.58, pp.33-41.

ALBERTS, B., et al. **Biologia molecular da célula**. 5º Ed. Artmed. Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2010. Cap. 18, p. 1115-1129.

ALMEIDA, P. W., et al. (2009). "Swim training suppresses tumor growth in mice." **J Appl Physiol** (1985) 107(1): 261-265.

AMA, Report of the Council on Science and Public Health. <http://www.ama-assn.org/assets/meeting/2013a/a13-addendum-refcomm-d.pdf#page=19>.

ANDREAZZI, A. E., et al. (2009). "Swimming exercise at weaning improves glycemic control and inhibits the onset of monosodium L-glutamate-obesity in mice." **J Endocrinol** 201(3): 351-359.

ANDERSON, M. A., et al. (2014). "Heterogeneity of reactive astrocytes." **Neurosci Lett** 565: 23-29.

ANDRIEZEN, W. L. (1893). "The Neuroglia Elements in the Human Brain." **Br Med J** 2(1700): 227-230.

ARRUDA, A. P., et al. (2011). "Low-grade hypothalamic inflammation leads to defective thermogenesis, insulin resistance, and impaired insulin secretion." **Endocrinology** 152(4): 1314-1326.

BACHOO, R. M., et al. (2004). "Molecular diversity of astrocytes with implications for neurological disorders." **Proc Natl Acad Sci U S A** 101(22): 8384-8389.

BADMAN, M.K., FLIER, J.S. (2005). The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. **Science**, vol. 307, n.5717, pp.1909-1914.

BERKSETH, K. E., et al. (2014). "Hypothalamic gliosis associated with high-fat diet feeding is reversible in mice: a combined immunohistochemical and magnetic resonance imaging study." **Endocrinology** 155(8): 2858-2867.

CASPERSEN, C. J., et al. (1985). "Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research." **Public Health Rep** 100(2): 126-131.

CHIARREOTTO-ROPELLE, E. C., et al. (2013). "Acute exercise suppresses hypothalamic PTP1B protein level and improves insulin and leptin signaling in obese rats." **Am J Physiol Endocrinol Metab** 305(5): E649-659.

CHOWEN, J. A., et al. (2016). "The role of astrocytes in the hypothalamic response and adaptation to metabolic signals." **Prog Neurobiol** 144: 68-87.

CINTRA, D. E., et al. (2007). "[Brain regulation of food intake and expenditure energy: molecular action of insulin, leptin and physical exercise]." **Rev Neurol** 45(11): 672-682.

COOPE, A., et al. (2016). "MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Metabolic and inflammatory pathways on the pathogenesis of type 2 diabetes." **Eur J Endocrinol** 174(5): R175-187.

CRONK, J. C. and J. KIPNIS (2013). "Microglia - the brain's busy bees." **F1000Prime Rep** 5: 53.

DE SOUZA, C. T., et al. (2005). "Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus." **Endocrinology** 146(10): 4192-4199.

DONG, Y. E BENVENISTE, E. N. (2001). Immune Function of Astrocytes. **Glia**, vol. 36, pp. 180-190.

EDDLESTON, M. and L. MUCKE (1993). "Molecular profile of reactive astrocytes-implications for their role in neurologic disease." **Neuroscience** 54(1): 15-36.

ENG, L. F. and R. S. GHIRNIKAR (1994). "GFAP and astrogliosis." **Brain Pathol** 4(3): 229-237.

ENG, L. F., et al. (2000). "Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000)." **Neurochem Res** 25(9-10): 1439-1451.

EVANGELISTA, F. S., BRUM, P. C., KRIEGER, J. E. (2003). Duration-Controlled Swimming Exercise Training Induces Cardiac Hypertrophy in Mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 36, pp. 1751-1759.

FEINGOLD, K. R., et al. (1989). "Effect of tumor necrosis factor (TNF) on lipid metabolism in the diabetic rat. Evidence that inhibition of adipose tissue lipoprotein lipase activity is not required for TNF-induced hyperlipidemia." **J Clin Invest** 83(4): 1116-1121.

FINUCANE, M. M., et al. (2011). National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. **Lancet** 377: 557–67.

FLATT JP. Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. (1987). **Am J Clin Nutr**; 45:296-306.

FLOR, L. S., et al. (2015). "Diabetes burden in Brazil: fraction attributable to overweight, obesity, and excess weight." **Rev Saude Publica** 49: 29.

FLORES, M. B., et al. (2006). "Exercise improves insulin and leptin sensitivity in hypothalamus of Wistar rats." **Diabetes** 55(9): 2554-2561.

GAFFEN, S. L. (2009). "Structure and signalling in the IL-17 receptor family." **Nat Rev Immunol** 9(8): 556-567.

GARCIA-CACERES, C., et al. (2013). "Hypothalamic astrocytes in obesity." **Endocrinol Metab Clin North Am** 42(1): 57-66.

GAYTON, A. C., HALL, J.E. Hormônios hipofisários e seu controle pelo hipotálamo. In: GAYTON, A. C., HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, 12.ed. Elsevier Health Sciences, 2011, pp. 941-951.

GLEESON, M. (2000). "Interleukins and exercise." **J Physiol** 529 Pt 1: 1.

GOMES, F. C. A., TORTELLI, V. P., DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos Avançados** 27(77) 2013.

GOMEZ-MERINO, D., et al. (2007). "Effects of chronic exercise on cytokine production in white adipose tissue and skeletal muscle of rats." **Cytokine** 40(1): 23-29.

GRILLI, M., et al. (1993). "NF-kappa B and Rel: participants in a multiform transcriptional regulatory system." **Int Rev Cytol** 143: 1-62.

HAMILTON, M. T., et al. (2007). "Role of low energy expenditure and sitting in obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease." **Diabetes** 56(11): 2655-2667.

HARIRI N, THIBAUT L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutr Res Rev.**, 23(2): 270-99.

HEINONEN, I., et al. (2013). "Sedentary behaviours and obesity in adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study." **BMJ Open** 3(6).

HIROSUMI, J., et al. (2002). "A central role for JNK in obesity and insulin resistance." **Nature** 420(6913): 333-336.

HORVATH, T. L., et al. (2010). "Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity." **Proc Natl Acad Sci U S A** 107(33): 14875-14880.

HOTAMISLIGIL, G. S. (2000). "Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte." **Int J Obes Relat Metab Disord** 24 Suppl 4: S23-27.

HOTAMISLIGIL, G. S., et al. (1995). "Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance." **J Clin Invest** 95(5): 2409-2415.

HOTAMISLIGIL, G. S., et al. (1993). "Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance." **Science** 259(5091): 87-91.

HOTAMISLIGIL, G. S. and B. M. Spiegelman (1994). "Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link." **Diabetes** 43(11): 1271-1278.

Hu, M. H., et al. (2014). "Neuroprotection effect of interleukin (IL)-17 secreted by reactive astrocytes is emerged from a high-level IL-17-containing environment during acute neuroinflammation." **Clin Exp Immunol** 175(2): 268-284.

INOUE, Jun-Ichiro., et al. (1991). c-rel Activates but v-rel suppresses transcription from kB sites. **Proc Natl Acad Sci U S A**, vol. 88 (9), pp. 3715-9.

KAHAN, D. (2015). "Adult physical inactivity prevalence in the Muslim world: Analysis of 38 countries." **Prev Med Rep** 2: 71-75.

Kawanishi, N., et al. (2010). "Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice." **Exerc Immunol Rev** 16: 105-118.

KELLY, T., et al. (2008). "Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030." **Int J Obes (Lond)** 32(9): 1431-1437.

KERN, T. S. and R. L. ENGERMAN (1994). "Comparison of retinal lesions in alloxan-diabetic rats and galactose-fed rats." **Curr Eye Res** 13(12): 863-867.

KIZAKI, T., et al. (2011). Voluntary exercise attenuates obesity-associated inflammation through ghrelin expressed in macrophages: **Biochem Biophys Res Commun**, 413:454-459

KOHL, H. W., 3rd, et al. (2012). "The pandemic of physical inactivity: global action for public health." **Lancet** 380(9838): 294-305.

KOPP, E. and S. GHOSH (1994). "Inhibition of NF-kappa B by sodium salicylate and aspirin." **Science** 265(5174): 956-959.

KUSHNER, RF. (2014). Weight Loss Strategies for Treatment of Obesity. **Progress Card Dis**, 56:465-472.

LAING, B. T., et al. (2016). "Voluntary exercise improves hypothalamic and metabolic function in obese mice." **J Endocrinol** 229(2): 109-122.

LARSEN S., et al. (2014). Effects of exercise training on mitochondrial function in patients with type 2 diabetes. **World J Diabetes**, 5(4):482-92.

LEE, D. A., et al. (2012). "Tanycytes of the hypothalamic median eminence form a diet-responsive neurogenic niche." **NAT NEUROSCI** 15(5): 700-702.

LEE, J. Y., et al. (2001). "Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4." **J BIOL CHEM** 276(20): 16683-16689.

LEE, I-Min., et al. (2012). Impact of Physical Inactivity on the World's Major NonCommunicable Diseases. **LANCET** 380 (9838): 219-229.

LEITE, M. R., et al. (2016). "A diphenyl diselenide-supplemented diet and swimming exercise promote neuroprotection, reduced cell apoptosis and glial cell activation in the hypothalamus of old rats." **EXP GERONTOL** 82: 1-7.

LEON-PEDROZA, J. I., et al. (2015). "[Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: from the molecular evidence to the clinical practice]." **CIR CIR** 83(6): 543-551.

LIN, Y., et al. (2016). "Critical role of astrocytic interleukin-17 A in post-stroke survival and neuronal differentiation of neural precursor cells in adult mice." **CELL DEATH DIS** 7(6): e2273.

LIRA, F. S., et al. (2009). "Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise." **CELL BIOCHEM FUNCT** 27(2): 71-75.

LYONS, C. L., et al. (2016). "Metabolic Inflammation-Differential Modulation by Dietary Constituents." **NUTRIENTS** 8(5).

MACAULEY, D. (1994). "A history of physical activity, health and medicine." **J R SOC MED** 87(1): 32-35.

MCARDLE, M. A., et al. (2013). "Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies." **FRONT ENDOCRINOL (LAUSANNE)** 4: 52.

MCMURRAY, R. G. and A. C. HACKNEY (2005). "Interactions of metabolic hormones, adipose tissue and exercise." **SPORTS MED** 35(5): 393-412.

MENDONÇA, C. P., ANJOS, L. A. (2004). Aspectos das práticas alimentares e da atividade física como determinantes do crescimento do sobrepeso/obesidade no Brasil. **CAD. SAÚDE PÚBLICA**, Rio de Janeiro, 20(3):698-709.

MILANSKI, M., et al. (2009). "Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity." **J NEUROSCI** 29(2): 359-370.

MISRA A, et al. (2008) Effect of Supervised Progressive Resistance-Exercise Training Protocol on Insulin Sensitivity, Glycemia, Lipids, and Body Composition in Asian Indians with Type 2 Diabetes. **DIABETES CARE** , vol.31, pp.1282–1287.

MORAES, J.C., et al. (2009). High Fat Induces Apoptosis of the Hypothalamic Neurons. **PLOS ONE**, vol. 4, n.4, pp. e5045.

MORGAN, J. A., et al. (2015). "Effects of physical exercise on central nervous system functions: a review of brain region specific adaptations." **J MOL PSYCHIATRY** 3(1): 3.

MUNZBERG, H., MYERS, M.G., JR., (2005). Molecular and Anatomical Determinants of Central Leptin Resistance. **NAT NEUROSCI**, vol.8, n.5, pp.566-570.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE STATEMENT: Gastrointestinal surgery for severe obesity. **Am J Clin Nutr** 1992; 55(2 Suppl):615S-619S.

NAVARRETE, M. and A. ARAQUE (2014). "The Cajal school and the physiological role of astrocytes: a way of thinking." **FRONT NEUROANAT** 8: 33.

NEHETE, P., et al. (2014). "Obesity related alterations in plasma cytokines and metabolic hormones in chimpanzees." **INT J INFLAM** 2014: 856749.

NG, M., et al. (2014). "Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013." **LANCET** 384(9945): 766-781.

NIMMERJAHN, A., et al. (2005). "Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo." **SCIENCE** 308(5726): 1314-1318.

NYBO, L., et al. (2002). "Interleukin-6 release from the human brain during prolonged exercise." **J PHYSIOL** 542(Pt 3): 991-995.

OBERHEIM, N. A., et al. (2012). "Heterogeneity of astrocytic form and function." **METHODS MOL BIOL** 814: 23-45.

OGDEN, C. L., et al. (2014). "Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012." **JAMA** 311(8): 806-814.

OGDEN, C. L.; YANOVSKI, S. Z.; CARROLL, M. D.; FLEGAL, K. M. The epidemiology of obesity. **GASTROENTEROLOGY**, v. 132, n. 6, p. 2087-2102, May 2007.

OLIVEIRA, A. G., et al. (2011). "Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats." **DIABETES** 60(3): 784-796.

OUCHI, N., et al. (2001). "Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages." **CIRCULATION** 103(8): 1057-1063.

OZCAN, U., et al. (2004). "Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes." **SCIENCE** 306(5695): 457-461.

PALEY, C. A. and M. I. JOHNSON (2016). "Physical Activity to Reduce Systemic Inflammation Associated With Chronic Pain and Obesity: A Narrative Review." **CLIN J PAIN** 32(4): 365-370.

PATTERSON, C. M., et al. (2009). "Three weeks of postweaning exercise in DIO rats produces prolonged increases in central leptin sensitivity and signaling." **AM J PHYSIOL REGUL INTEGR COMP PHYSIOL** 296(3): R537-548.

PEDERSEN, B. K. and M. A. FEBBRAIO (2012). "Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ." **NAT REV ENDOCRINOL** 8(8): 457-465.

PEDERSEN, B. K., et al. (2001). "Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects." **J PHYSIOL** 536(Pt 2): 329-337.

PEKNY, M. and M. PEKNA (2014). "Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits." **PHYSIOL REV** 94(4): 1077-1098.

PEREA, G., et al. (2009). "Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information." **TRENDS NEUROSCI** 32(8): 421-431.

PEREIRA, B. C., et al. (2015). "Excessive eccentric exercise leads to transitory hypothalamic inflammation, which may contribute to the low body weight gain and food intake in overtrained mice." **NEUROSCIENCE** 311: 231-242.

PEREIRA, B. C., et al. (2015). "Eccentric Exercise Leads to Glial Activation but not Apoptosis in Mice Spinal Cords." **INT J SPORTS MED** 36(5): 378-385.

PEREIRA, S. S. and J. I. ALVAREZ-LEITE (2014). "Low-Grade Inflammation, Obesity, and Diabetes." **CURR OBES REP** 3(4): 422-431.

- PETERSEN, M. A. and M. E. DAILEY (2004). "Diverse microglial motility behaviors during clearance of dead cells in hippocampal slices." **GLIA** 46(2): 195-206.
- PFRIEGER, F. W. and B. A. BARRES (1997). "Synaptic efficacy enhanced by glial cells in vitro." **SCIENCE** 277(5332): 1684-1687.
- PIEHL, F. E., LIDMAN, O. (2001). Neuroinflammation in the Rat--CNS Cells and Their Role in the Regulation of Immune Reactions. **IMMUNOL REV**, vol. 184, pp. 212-225.
- POMPLUN D, et al. (2007). Reduced expression of mitochondrial frataxin in mice exacerbates diet-induced obesity. **PROC NATL ACAD SCI USA**; 104: 6377-6381.
- RANSOM, B. R. and H. KETTENMANN (1990). "Electrical coupling, without dye coupling, between mammalian astrocytes and oligodendrocytes in cell culture." **GLIA** 3(4): 258-266.
- RASMUSSEN, P., et al. (2011). "In humans IL-6 is released from the brain during and after exercise and paralleled by enhanced IL-6 mRNA expression in the hippocampus of mice." **ACTA PHYSIOL (OXF)** 201(4): 475-482.
- REEVES, P. G., et al. (1993). "AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet." **J NUTR** 123(11): 1939-1951.
- ROPELLE, E. R., et al. (2010). "IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKKbeta and ER stress inhibition." **PLOS BIOL** 8(8).
- ROSS, M. H., PAWLINA, W. **HISTOLOGIA TEXTO E ATLAS EM CORRELAÇÃO COM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**. 6º Ed. Gen/Guanabara Koogan. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2012. Cap. 12, p. 612-688.

SARTIPY, P. and D. J. LOSKUTOFF (2003). "Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance." **PROC NATL ACAD SCI U S A** 100(12): 7265-7270.

SATO Y, Sato J, TOKUDOME S. (1996). Management of impaired glucose tolerance: physical training therapy. **Nihon Rinsho**. 54(10):2745-9.

SAUR, L., et al. (2014). "Physical exercise increases GFAP expression and induces morphological changes in hippocampal astrocytes." **BRAIN STRUCT FUNCT** 219(1): 293-302.

SCHULZ, C., et al. (2012). "A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells." **SCIENCE** 336(6077): 86-90.

SCHWARTZ, M. W., et al. (2000). "Central nervous system control of food intake." **NATURE** 404(6778): 661-671.

SHOELSON, S. E., et al. (2003). "Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance." **Int J Obes Relat Metab Disord** 27 Suppl 3: S49-52.

SIEGEL, R.M., et al. (2003). Death Receptor Signaling and Autoimmunity. **Immunol Res**, vol. 27, pp.499–512.

SOFRONIEW, M. V. (2009). "Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation." **Trends Neurosci** 32(12): 638-647.

SORENSEN, T.I., VIRTUE, S., VIDAL-PUIG, A. (2010). Obesity as a Clinical and Public Health Problem: Is There a Need For a New Definition Based on Lipotoxicity Effects? **Biochim Biophys Acta**, vol. 1801, pp. 400–404.

SPRANGER, J., et al. (2003). "Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study." **Diabetes** 52(3): 812-817.

STIPURSKY, J., et al. (2011). "Neuron-glia signaling: Implications for astrocyte differentiation and synapse formation." **Life Sci** 89(15-16): 524-531.

STIPURSKY, J., et al. (2012). "Neuron-astroglial interactions in cell-fate commitment and maturation in the central nervous system." **Neurochem Res** 37(11): 2402-2418.

SUBRAMANIAN, S. K., et al. (2013). "Comparison of effect of regular unstructured physical training and athletic level training on body composition and cardio respiratory fitness in adolescents." **J Clin Diagn Res** 7(9): 1878-1882.

TAIB, B., et al. (2013). "Glucose regulates hypothalamic long-chain fatty acid metabolism via AMP-activated kinase (AMPK) in neurons and astrocytes." **J Biol Chem** 288(52): 37216-37229.

Taylor, H. L. (1983). "Physical activity: is it still a risk factor?" **Prev Med** 12(1): 20-24.

THALER, J. P. and M. W. SCHWARTZ (2010). "Minireview: Inflammation and obesity pathogenesis: the hypothalamus heats up." **Endocrinology** 151(9): 4109-4115.

THALER, J. P., et al. (2012). "Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans." **J Clin Invest** 122(1): 153-162.

TUOMILEHTO, J., et al. (2001). Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle Among Subjects With Impaired Glucose Tolerance. **N Engl J Med**, vol.344, pp. 1343–1350.

ULLIAN, E. M., et al. (2001). Control of Synapse Number by Glia. **Science**, vol. 291, pp. 657-661.

VAN DE SANDE-LEE, S. and L. A. VELLOSO (2012). "[Hypothalamic dysfunction in obesity]." **Arq Bras Endocrinol Metabol** 56(6): 341-350.

VELLOSO, L. A. (2009). "The brain is the conductor: diet-induced inflammation overlapping physiological control of body mass and metabolism." **Arq Bras Endocrinol Metabol** 53(2): 151-158.

Velloso, L. A., et al. (2009). "Hypothalamic dysfunction in obesity." **Rev Neurosci** 20(5-6): 441-449.

VELLOSO, L. A., et al. (2008). "Diet-induced inflammation of the hypothalamus in obesity." **Neuroimmunomodulation** 15(3): 189-193.

VELLOSO, L. A., et al. (2015). "TLR4 at the Crossroads of Nutrients, Gut Microbiota, and Metabolic Inflammation." **Endocr Rev** 36(3): 245-271.

MINISTÉRIO DA SAÚDE E AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR, Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), Excesso de peso e obesidade (2014), p. 53. Acessado em: www.saude.gov.br/bvs.

MINISTÉRIO DA SAÚDE E AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR, Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), Consumo alimentar (2014), p. 60. Acessado em: www.saude.gov.br/bvs.

MINISTÉRIO DA SAÚDE E AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR, Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), Atividade física (2014), p. 89. Acessado em: www.saude.gov.br/bvs.

VOLTERRA, A. and J. MELDOLESI (2005). "Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues." **Nat Rev Neurosci** 6(8): 626-640.

VOSKUHL, R. and T. C. WU (2009). "Do estroprogestinic hormones protect against chemotherapy-induced amenorrhea in multiple sclerosis?" **Nat Clin Pract Neurol** 5(1): 18-19.

WALLENIUS, K., et al. (2002). "Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats." **Biochem Biophys Res Commun** 293(1): 560-565.

WANNER, I. B., et al. (2013). "Glial scar borders are formed by newly proliferated, elongated astrocytes that interact to corral inflammatory and fibrotic cells via STAT3-dependent mechanisms after spinal cord injury." **J Neurosci** 33(31): 12870-12886.

WEST, D. B., YORK, B. (1998). Dietary fat, genetic predisposition and obesity: lessons from animal models. **Am J Clin Nutr.** 67:505-12.

WESTERTERP, K. R., et al. (2008). Dietary fat oxidation as a function of body fat. **Am J Clin Nutr**; 87: 132-135.

WILLET, W. (1998). Is dietary fat a major determinant of body fat? **Am J Clin Nutr** 67:556-62.

Wynne, K., et al. (2005). "Appetite control." **J Endocrinol** 184(2): 291-318.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (OMS), GLOBAL HEALTH OBSERVATORY (GHO). Risk factors: **Unhealth diet** (2008b). Consultado em: http://www.OMS.int/gho/ncd/risk_factors/unhealthy_diet_text/en/.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (OMS), Obesity and overweight (2016). Consultado em: <http://www.OMS.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (OMS), Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health, Information sheet: global recommendations on physical activity for health 18 - 64 years old (2011). Consultado em: http://www.OMS.int/dietphysicalactivity/publications/recommendations18_64yearsold/en/.

XU, H., et al. (2003). "Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance." **J Clin Invest** 112(12): 1821-1830.

XU, Y., et al. (2008). "Signaling pathway of autophagy associated with innate immunity." **Autophagy** 4(1): 110-112.

YI, C. X., et al. (2012). "Exercise protects against high-fat diet-induced hypothalamic inflammation." **Physiol Behav** 106(4): 485-490.

YOU, T., et al. (2013). "Effects of exercise training on chronic inflammation in obesity : current evidence and potential mechanisms." **Sports Med** 43(4): 243-256.

ZANDI, E., et al. (1997). "The IkappaB kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKKalpha and IKKbeta, necessary for IkappaB phosphorylation and NF-kappaB activation." **Cell** 91(2): 243-252.

ZINKER, B. A. (1999). Nutrition and exercise in individuals with diabetes. **Clin Sports Med**. 18(3):585-606.



Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)

Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –

CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;

www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 136/11 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 063/11**

Projeto Pesquisa: "Resposta astrocitária no hipotálamo de animais submetidos
à dieta hiperlipídica e exercício aeróbico".

Pesquisador Responsável: Renata Graciele Zanon

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com
animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO
DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE
ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 21 de setembro de 2011

Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes
Presidente da CEUA/UFU