



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

TERESA MARIA DA RE SILVA

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NOS
BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO ESTRESSE
OXIDATIVO DO TECIDO ADIPOSEO PERIVASCULAR DE
CAMUNDONGOS FÊMEAS OBESAS

CAMPINAS

2024

TERESA MARIA DA RE SILVA

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NOS
BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DO ESTRESSE OXIDATIVO
DO TECIDO ADIPOSEO PERIVASCULAR DE CAMUNDONGOS
FÊMEAS OBESAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Mestra em Biologia Molecular e Morfofuncional, na área de Fisiologia.

Orientador: MARIA ANDRÉIA DELBIN

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
PELA ALUNA TERESA MARIA DA RE SILVA E
ORIENTADA PELA MARIA ANDRÉIA DELBIN.

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

D11e Da Re Silva, Teresa Maria, 1997-
Efeitos do treinamento físico aeróbio nos biomarcadores inflamatórios e do estresse oxidativo do tecido adiposo perivascular de camundongos fêmeas obesas / Teresa Maria Da Re Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Maria Andréia Delbin.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Biologia.

1. Tecido adiposo perivascular. 2. Exercícios físicos. 3. Obesidade. 4. Estresse oxidativo. 5. Inflamação. I. Delbin, Maria Andréia, 1982-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Instituto de Biologia. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Effects of aerobic exercise training on inflammatory and oxidative stress biomarkers of perivascular adipose tissue in obese female mice

Palavras-chave em inglês:

Perivascular adipose tissue

Exercise

Obesity

Oxidative stress

Inflammation

Área de concentração: Fisiologia

Titulação: Mestra em Biologia Molecular e Morfofuncional

Banca examinadora:

Maria Andréia Delbin [Orientador]

Ana Paula Couto Davel

Fábio Henrique da Silva

Data de defesa: 19-08-2024

Programa de Pós-Graduação: Biologia Molecular e Morfofuncional

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-9033-1257>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4680272763498136>

Campinas, 19 de agosto de 2024.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.(a) Dr.(a). Maria Andréia Delbin

Prof.(a). Dr.(a) Ana Paula Couto Davel

Prof.(a) Dr(a). Fábio Henrique da Silva

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Morfofuncional da Unidade Instituto de Biologia.

Dedico esse trabalho à minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a São Judas Tadeu pelas preces atendidas e pela proteção.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria Andréia Delbin, agradeço pela confiança, atenção e dedicação. Sou grata pelas palavras de carinho e estímulo, por todo conhecimento compartilhado e por me permitir a realização de um sonho.

Agradeço a minha família, especialmente minha mãe que acredita nos meus objetivos e me apoia incondicionalmente. Sou grata pela força e inspiração que as minhas tias Maria, Tânia e Luciana me transmitem. Agradeço a minha prima Flávia, por ter me apresentado a ciência e despertado em mim a admiração pela pesquisa. Para a minha irmã mais nova, Victória, deixo meu agradecimento e meu desejo de que sua jornada acadêmica seja bem sucedida, mas também leve e proveitosa.

Sou grata aos amigos de longa data, com quem divido essa conquista e que tornam a caminhada mais bonita: Eduardo, meu grande amigo de infância, que mesmo em outro fuso horário, ainda me acompanha; Stella, que desde o ensino médio permanece ao meu lado; Bianca, colega de apartamento e de graduação, que se tornou uma grande amiga; Raquel, amiga e companheira de graduação.

As amizades que fiz no laboratório, agradeço por me acolherem, pelas trocas, pela ajuda técnica e por tornarem a rotina e o trabalho mais alegres. Agradeço ao Guilherme e a Luiza pela ajuda em nosso projeto. A minha amiga Camila, agradeço pela parceria profissional e, especialmente, pela grande amizade. Aos meus vizinhos Lari e Henrique, agradeço por toda ajuda e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Sílvio Roberto Consonni e a aluna Lizandra Maia; ao Prof. Dr. Fabiano Beraldi Calmasini; e ao Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira e as alunas Lilian Coser e Ana Laura Tomiyama agradeço pela oportunidade de aprender e realizar técnicas essenciais para esse trabalho em seus laboratórios.

Agradeço as agências FAPESP (2022/10354-3) e CNPq (157401/2022-7) pelo auxílio financeiro, fundamental para o desenvolvimento desse trabalho. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“O que me tranquiliza é que tudo o que existe,
existe com uma precisão absoluta.”

Clarice Lispector

RESUMO

O tecido adiposo perivascular (PVAT) desempenha importante função endócrina e parácrina e o exercício aeróbio interfere diretamente no padrão secretor deste tecido. Fatores pró-inflamatórios secretados pelo PVAT associados ao estresse oxidativo contribuem para o desenvolvimento de complicações cardiovasculares na obesidade. Os mecanismos responsáveis pela disfunção do PVAT na obesidade ainda não estão totalmente elucidados; de fato, os estudos foram realizados principalmente em machos. O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre os biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo do PVAT da aorta torácica (tPVAT) em camundongos fêmeas obesas. Camundongos fêmeas C57BL6/JUnib (4-5 semanas) foram divididas em (CEUA/UNICAMP: 5849-1/2021): sedentárias (SD), treinadas (TR), obesas sedentárias (OB/SD) e obesas treinadas (OB/ TR). A obesidade foi induzida por 16 semanas de dieta hiperlipídica (32% de carboidratos, 20% de proteínas e 38% de lipídios, 6,2 kcal/g) e o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada (50-60% da velocidade máxima) foi iniciado após 8 semanas de protocolo e realizado em esteira ergométrica, 5 dias/semana, 60 min por sessão, por mais 8 semanas. Medimos os níveis séricos de glicose, 17β -estradiol, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), adiponectina, leptina e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), além dos níveis de adiponectina, leptina e TNF- α no tPVAT. Também realizamos no tPVAT histologia para caracterização morfológica e citometria de fluxo para análise das células do sistema imunológico. Para comparação dos grupos experimentais foi utilizada ANOVA duas vias seguido de pós-teste de Bonferroni. No grupo OB/SD o peso corporal, o peso do tecido adiposo perigonadal, a glicose sérica, a leptina, o TNF- α e o aumentaram quando comparados com o grupo SD, enquanto o treinamento físico foi eficaz para reduzir os valores de leptina, TNF- α e TBARS no grupo OB/TR, sem alterações no peso corporal, no peso do tecido adiposo perigonadal e na glicemia. Não foram observadas alterações séricas de 17β -estradiol e adiponectina em todos os grupos. No entanto, a concentração de adiponectina no tPVAT aumentou no grupo OB/TR em comparação ao OB/SD. Os adipócitos do tPVAT no grupo OB/SD exibiram predominância de tecido adiposo branco, com aumento e coalescência dos adipócitos em comparação com o grupo SD; no grupo OB/TR observou-se presença de tecido adiposo marrom, adipócitos menores. Na citometria de fluxo, observamos no grupo OB/SD aumento de linfócitos T, especialmente natural killer (NK), sendo o treinamento físico efetivo em sua redução no grupo OB/TR. Assim, nossas descobertas mostram uma alteração profunda na morfologia, quantidade e no perfil das células imunológicas do tPVAT de camundongos fêmeas obesas que foram associadas ao aumento da resposta inflamatória sistêmica e à peroxidação lipídica. O treinamento físico aeróbio foi eficaz na redução de algumas alterações morfológicas e na quantidade de linfócitos T NK induzidas pela obesidade no tPVAT, bem como, na redução da inflamação e do estresse oxidativo circulantes.

Palavras-chave: exercício físico aeróbio, tecido adiposo perivascular, fêmeas, obesidade, inflamação, estresse oxidativo, senescência celular.

ABSTRACT

The perivascular adipose tissue (PVAT) plays an important endocrine and paracrine function and aerobic exercise directly interferes with the secretory pattern of this tissue. Pro-inflammatory factors secreted by PVAT associated with oxidative stress contribute to the development of cardiovascular complications in obesity. The mechanisms responsible for PVAT dysfunction in obesity are still not fully elucidated; in fact, studies were mainly carried in male. The present study aimed to investigate the effects of aerobic exercise training on inflammatory and oxidative stress biomarkers of PVAT in obese female mice. Female mice C57BL6/JUnib (4-5 weeks) were divided into (CEUA/UNICAMP: 5849-1/2021): sedentary (SD), trained (TR), obese sedentary (OB/SD), and obese trained (OB/TR). Obesity was induced by 16 weeks of high-fat diet (32% carbohydrates, 20% proteins and 38% lipids, 6.2 kcal/g) and aerobic exercise training of moderate intensity (50-60% of maximum speed) started after 8 weeks of protocol and was performed on a treadmill, 5 days/week, 60 min per session, for more 8 weeks. We measured serum levels of glucose, 17 β -estradiol, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), adiponectin, leptin and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The level of adiponectin, leptin and TNF- α on PVAT of thoracic aorta (tPVAT) was verified. We also performed histological analysis on tPVAT and flow cytometry to evaluate the immune cell population on tPVAT. For comparison of experimental groups, two-way ANOVA followed by Bonferroni's post-test was used. In OB/SD group the body weight, perigonadal fat pad, serum glucose, leptin, TNF- α and TBARS were increased when compared with the SD group, whereas exercise training was effective to reduce the values of leptin, TNF- α and TBARS in OB/TR group, without any change in body weight, perigonadal fat pad and serum glucose. No alterations were observed in all groups regarding the serum levels of 17 β -estradiol and adiponectin. Although adiponectin levels in the tPVAT were increased in the OB/TR group, when compared to OB/SD. The adipocytes from tPVAT in OB/SD group exhibited enlargement lipid droplets in comparison with the SD group; in OB/TR group the lipid droplets were smaller. Flow cytometry showed an increase in T lymphocytes, especially natural killer (NK) cells, in the OB/SD group, with physical training being effective in reducing their numbers in the OB/TR group. Thus, our findings show a profound alteration on tPVAT morphology, quantity, and profile of immune cells in the PVAT of obese female mice, which were associated with an increased systemic inflammatory response and lipid peroxidation. Aerobic exercise training was effective in reducing some alterations induced by obesity on tPVAT, circulatory inflammation, oxidative stress and the number of NK cells.

Keywords: aerobic exercise, perivascular adipose tissue, females, obesity, inflammation, oxidative stress, cellular senescence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeito vasodilatador e hiperpolarizante de fatores derivados do tecido adiposo perivascular (PVAT) nas células do músculo liso vascular (CMLV) e nas células endoteliais.	18
Figura 2. Disfunção do PVAT associada à obesidade.....	20
Figura 3. Mecanismos pelos quais a disfunção sistêmica do tecido adiposo pode levar ao desenvolvimento de disfunção vascular na obesidade	24
Figura 4. Efeitos do exercício físico aeróbio de moderada intensidade nas vias de sinalização envolvidas na disfunção do tecido adiposo	30
Figura 5. Protocolo experimental	34
Figura 6. Peso corporal semanal	40
Figura 7. Pressão arterial sistólica inicial, após 8 semanas de protocolo experimental e final.....	42
Figura 8. Níveis séricos de 17 β -Estradiol, Leptina, Adiponectina, TNF- α e MDA.....	44
Figura 9. Concentração de adiponectina, leptina e TNF- α no PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas.	45
Figura 10. Quantificação de adipócitos brancos e marrons do tecido adiposo perivascular (PVAT) da aorta torácica de camundongos fêmeas.....	46
Figura 11. Fotomicrografias representativas do PVAT de segmentos da aorta torácica de camundongos fêmeas	47
Figura 12. Caracterização de macrófagos isolados do PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas.	49
Figura 13. Porcentagem da população de células imunes no PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas.	50
Figura 14. Síntese dos principais resultados.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição da velocidade e do tempo no protocolo de adaptação à esteira.....	35
Tabela 2. Valores do teste de esforço máximo pré e pós-treinamento	39
Tabela 3. Peso corporal, tecido adiposo perigonadal, glicemia casual e em jejum, consumo alimentar e hídrico dos camundongos fêmeas	41
Tabela 4. Frequência cardíaca inicial, após 8 semanas de protocolo experimental e final.....	42

LISTA DE ABREVIÇÕES

5-HT	Serotonina
AKT	Protein Kinase B
Ang 1-7	Angiotensina 1-7
Ang II	Angiotensina II
APC	Células Progenitoras de Adipócitos
AdipoR1	Receptor de Adiponectina 1
AMPK	Proteína Kinase Ativada por AMP
AR	Receptor Androgênico
β 3AR	Receptor Beta-3 adrenérgico
β -gal	Beta-Galactosidase
BKCa	Canais de Potássio Dependentes de Cálcio
CAT	Catalase
CMLV	Células do Músculo Liso Vascular
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
EDHF	Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EnNaC	Canal de Sódio Epitelial
EPM	Erro Padrão Médio
ER	Receptor Estrogênico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
eNOS	Sintase Endotelial do Óxido Nítrico
GR	Receptor Glucocorticoide
GPx	Glutathione Peroxidase
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
HIF-1 α	Fator Induzido por Hipóxia 1 Alfa
HO	Heme Oxigenase
ICAM1	Molécula de Aderência Intercelular 1
IL-1	Interleucina 1
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10

IL-13	Interleucina 13
iNOS	Sintase Induzível Óxido Nítrico
KCNQ	Canais para Potássio Dependentes de Voltagem
LR	Receptor de Leptina
MAS	Receptor Mas
mPVAT	Tecido Adiposo Perivascular da artéria mesentérica
MDA	Malondialdeído
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NE	Norepinefrina
NF- κ B	Fator Nuclear kappa B
NO	Óxido Nítrico
NOX	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase
NOX 2	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase 2
NPR	Receptor de Peptídeo Natriurético
OCT3	Transportador de Cátions Orgânicos 3
O ₂ ⁻	Ânion Superóxido
OVX	Ovariectomia
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PI3K	Fosfoinosítídeo 3-Kinase
PKG	Protein Kinase G
PPAR γ	Proliferador de Peroxissomo Gama
Prxs	Peroxirredoxinas
PVCFs	Fatores Vasoconstritores Derivados do Tecido Adiposo Perivascular
PVRFs	Fatores Relaxantes Derivados do Tecido Adiposo Perivascular
SOD	Superóxido Dismutase
SHR	Animais Espontaneamente Hipertensos
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SVF	Fração Vascular Estromal
TAB	Tecido Adiposo Branco
TAM	Tecido Adiposo Marrom
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TLR4	Receptor Toll Like 4
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UCP-1	Proteína Desacopladora 1

VMAX	Velocidade Máxima
VCAM1	Molécula de Aderência Celular Vascular 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Tecido adiposo perivascular e obesidade	17
2.2 Disfunção vascular	22
2.3 Dimorfismo sexual	26
2.4 Exercício físico aeróbio	27
3 HIPÓTESE E OBJETIVO	32
3.1 Hipótese	32
3.2 Objetivo	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Animais	33
4.2 Peso corporal, consumo hídrico e consumo alimentar	34
4.3 Pressão arterial sistólica e frequência cardíaca	34
4.4 Treinamento físico aeróbio	35
4.5 Medida de glicemia, obtenção das amostras de soro e tecido	36
4.6 Determinação de fatores bioquímicos	36
4.7 Histologia	37
4.8 Citometria de fluxo	37
4.9 Análise estatística	38
5 RESULTADOS	38
5.1 Teste de esforço máximo e eficácia do Protocolo de treinamento físico	38
5.2 Parâmetros corporais, consumo hídrico e alimentar	39
5.3 Medida de pressão arterial sistólica e frequência cardíaca	41
5.4 Parâmetros bioquímicos	42
5.5 Histologia	45
5.6 Citometria de Fluxo	48
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÃO	59
8 REFERÊNCIAS	60
9 ANEXOS	78
9.1 Anexo A – Parecer do Comitê de Ética para uso de Animais	78
9.2 Anexo B – Declaração referente a direitos autorais	79

1. INTRODUÇÃO

A prevalência de obesidade em diversas populações, inclusive no Brasil, tem crescido constantemente. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o percentual de pessoas obesas em idade adulta no país foi de 12,2%, entre 2002 e 2003, para 26,8% em 2019. Além disso, segundo os números, a obesidade em mulheres nessa faixa etária passou de 14,5% para 30,2%, superando a estatística dos homens que subiu de 9,6% para 22,8% (IBGE, 2020).

A obesidade, caracterizada pelo desbalanço energético e excesso de tecido adiposo, está associada ao processo de envelhecimento celular. Nesse contexto, um perfil celular inflamatório crônico se estabelece, resultando em maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SANTOS et al., 2021). Essas alterações constituem importantes fatores de risco para o desenvolvimento de patologias secundárias à obesidade, como as doenças cardiovasculares (COSTA et al., 2018).

O tecido adiposo perivascular (PVAT) regula o tônus vascular, desempenhando importante função anticontrátil ao secretar fatores vasodilatadores, principalmente óxido nítrico (NO). Foi demonstrado que na obesidade, o aumento do estresse oxidativo e da resposta inflamatória alteram o perfil secretor do PVAT, precedendo a disfunção endotelial (ZHOU et al., 2021).

A susceptibilidade a doenças se apresenta de forma diferente entre os sexos, demonstrando alterações inflamatórias relacionadas à obesidade, que nas mulheres podem estar associadas à concentração de estrogênio (POPKO et al. 2010; PETTERSSON et al., 2012). Além disso, as mulheres são mais propensas a desenvolverem obesidade severa e apresentam maiores riscos de complicações, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 (DM2), hipertensão arterial sistêmica, apneia do sono, câncer e transtornos mentais (MANRIQUE-ACEVEDO et al., 2020), em comparação aos homens (RYAN et al., 2007). Assim, ressalta-se a necessidade de intervenções terapêuticas ou preventivas diante dessa população específica.

Durante muito tempo tanto a pesquisa básica quanto a clínica ignoraram a influência do sexo nos resultados obtidos. Havia uma tendência em tratar os sexos como equivalentes, com uso majoritário de machos em seus desenhos experimentais. De fato, existem evidências emergentes apontando que as diferenças sexuais influenciam diretamente a epidemiologia, fisiopatologia, tratamento e desfechos

clínicos de muitas doenças, particularmente as não-transmissíveis, como as doenças cardiovasculares (KAUTZKY-WILLER; HARREITER; PACINI, 2016).

Trabalhos envolvendo modelos animais de obesidade induzida são essenciais para o desenvolvimento de pesquisas na área devido a sua grande semelhança com a gênese e as respostas metabólicas decorrentes do sobrepeso e da obesidade em humanos (WEST E YORK, 1998; TSCHOP E HEIMAN, 2001). Especificamente, o modelo de indução de obesidade por dieta hiperlipídica em camundongos C57BL6/J machos e fêmeas está bem documentado (WINZELL E AHRÉN, 2004; TSUKUMO et al., 2007; XU et al., 2011; PETTERSSON et al., 2012; ROBISON et al., 2020), sendo esse modelo uma ferramenta útil no estudo dos efeitos da adiposidade.

Na literatura ainda não existem estudos que investigaram os efeitos do treinamento físico aeróbio de moderada intensidade nos biomarcadores inflamatórios, do estresse oxidativo e da senescência do PVAT da aorta torácica (tPVAT) de fêmeas obesas. Desse modo, esse estudo poderá evidenciar e elucidar possíveis diferenças em fêmeas, contribuindo para maior conhecimento na área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Tecido adiposo perivascular e obesidade*

O tecido adiposo perivascular (PVAT) é um tipo especial de depósito de gordura ectópica que envolve a maioria dos vasos sanguíneos (MAN et al., 2022). Antes era visto apenas como uma estrutura de suporte e proteção mecânica (SZASZ E WEBB, 2012), atualmente é classificado como um órgão endócrino e parácrino devido a sua capacidade de secretar adipocinas e mediadores anti-inflamatórios (SOLTIS E CASSIS, 1991; LOHN et al., 2002; COSTA et al., 2018). Sendo assim, o PVAT é essencial para manutenção do equilíbrio vascular, atuando nas células musculares lisas e nas células endoteliais, por vias dependentes do endotélio e vias independentes do endotélio (MAENHAUT E VAN VOORDE, 2011; MAN et al., 2022).

Classicamente, o PVAT exerce função anticontrátil nos vasos sanguíneos por meio da secreção de vários fatores relaxantes derivados do PVAT (PVRFs), como leptina, adiponectina, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), prostaglandinas, angiotensina 1-7 e NO (CHANG et al., 2012; XIA et al., 2016) (Figura 1). Estudos revelaram que o PVAT também é capaz de secretar fatores vasoconstritores (PVCFs), como serotonina (5-HT), norepinefrina (NE), angiotensina II (Ang-II) e EROs (KUMAR et al., 2019).

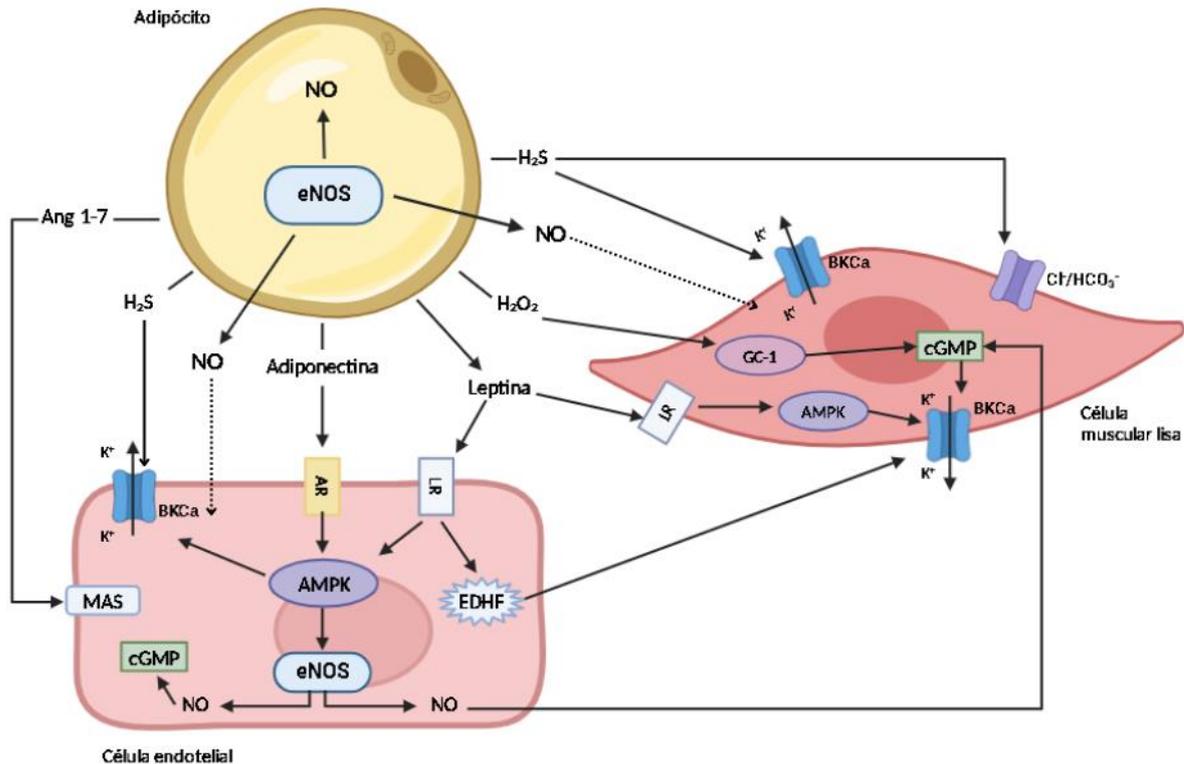


Figura 1. Efeito vasodilatador e hiperpolarizante de fatores derivados do tecido adiposo perivascular (PVAT) nas células do músculo liso vascular (CMLV) e nas células endoteliais. A adiponectina interage com os receptores de adiponectina (AR) nas células endoteliais, ativando a proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK), responsável pela ativação da sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS). O aumento na concentração de óxido nítrico (NO) induz a ativação do monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), que é responsável pela abertura de canais de potássio ativados por cálcio de grande condutância (BKCa). A leptina interage com os receptores de leptina (LR), que ativam a AMPK e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), resultando na ativação do BKCa. Além disso, a AMPK ativa de forma independente o BKCa e induz um efeito de hiperpolarização. O sulfeto de hidrogênio (H_2S) induz a ativação de BKCa em CMLV e células endoteliais. Também induz a diminuição do pH intracelular pela ativação do trocador iônico Cl^-/HCO_3^- . A angiotensina 1–7 (Ang 1–7), ao interagir com o receptor endotelial Ang 1–7 (MAS), ativa a eNOS e aumenta a concentração de NO. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) estimula a guanilato ciclase solúvel (sGC-1), que induz vasodilatação por meio da via NO/sGC-1/cGMP. (Adaptado de: Stanek, et al. 2021).

No organismo são encontrados, primordialmente, dois tipos de tecido adiposo: branco (TAB), que constitui importante reserva energética; e marrom (TAM) com funções termorreguladoras. Além disso, já foram caracterizados adipócitos bege, que expressam marcadores TAM junto a marcadores específicos de superfície celular (XUE et al. 2007). O PVAT possui um fenótipo misto, exibindo características de ambos os tipos de tecido adiposo, com diferentes proporções a depender do vaso sanguíneo (CINTI, 2011; PADILLA et al., 2013). Os tipos celulares encontrados no PVAT incluem adipócitos, macrófagos, células progenitoras, linfócitos e fibroblastos. Além da proporção de células se alterar de acordo com a idade, estado nutricional e condições ambientais (MIAO et al., 2012), as diferenças regionais do PVAT estão associadas a funções distintas e diferentes desfechos fisiopatológicos.

Na aorta foram descritas diferenças regionais histológicas e funcionais entre o PVAT da porção torácica (tPVAT) e abdominal (aPVAT) (POLICE et al., 2009). O tPVAT apresenta, predominantemente, adipócitos marrons (multiloculares), que expressam proteína termogênica desacopladora-1 (UCP-1) e ativador de morte celular CIDE-A (Cidea) (TRAN et al., 2018). Enquanto que o aPVAT caracteriza-se pelo predomínio de adipócitos brancos (uniloculares), podendo conter uma mistura de adipócitos brancos e bege (PADILLA et al., 2013).

A obesidade é uma doença multifatorial, cuja patogênese está relacionada a fatores biológicos, psicossociais, socioeconômicos e ambientais (POWELL-WILEY et al., 2021). As complicações cardiometabólicas observadas nessa condição são decorrentes de alterações fisiopatológicas incluindo dislipidemia e o estabelecimento de um processo inflamatório crônico (XIA et al., 2017). Assim, no PVAT observa-se acúmulo e alterações nos adipócitos (COSTA et al., 2018).

O desbalanço energético observado na obesidade resulta em remodelação do tecido adiposo, com hiperplasia e hipertrofia de adipócitos (SPALDING et al., 2008; COSTA et al., 2018). Os adipócitos de indivíduos obesos apresentam acúmulo de macrófagos com genes associados ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, expressam sintase induzível do óxido nítrico (iNOS) e produzem altos níveis de EROs (LUMENG et al., 2007; COSTA et al., 2018).

O PVAT está envolvido na produção de adipocinas e alterações em seu perfil secretor, induzidas pela obesidade, podem causar prejuízos em diversos processos fisiológicos (MARCHESI et al., 2009; KETONEN et al., 2010). Nesse contexto, prejuízos no equilíbrio energético, nas respostas imunológicas, na pressão arterial, na homeostase vascular e angiogênese, no metabolismo de glicose e lipídico, além de resistência à insulina contribuem para o elevado risco cardiovascular associado à obesidade (WANG et al., 2005; POWELL – WILEY et al., 2021) (Figura 2).

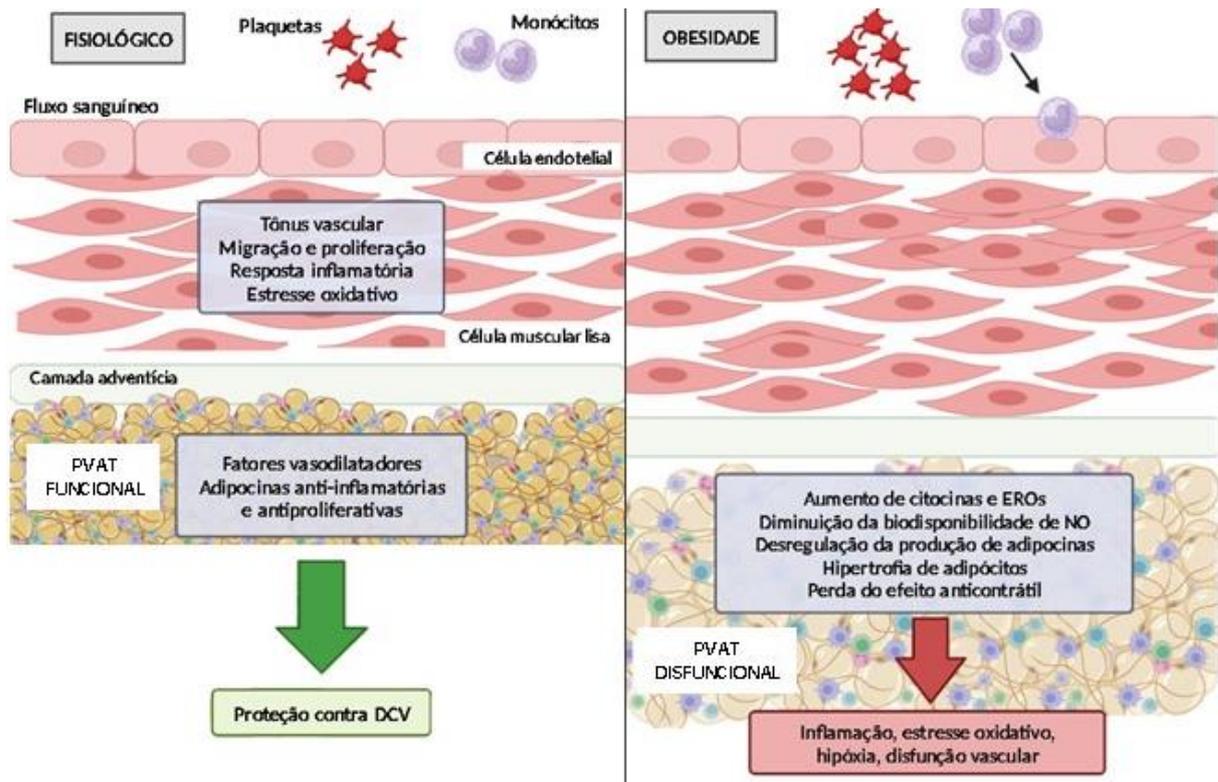


Figura 2. Disfunção do tecido adiposo perivascular (PVAT) associada à obesidade. O PVAT secreta moléculas biologicamente ativas, incluindo as adipocinas, que modulam o tônus vascular, a migração e a proliferação de células musculares lisas, as respostas inflamatórias e o estresse oxidativo. A obesidade resulta em alterações estruturais e funcionais no PVAT, levando a um desequilíbrio em favor de substâncias vasoconstritoras e pró-inflamatórias, hipertrofia de adipócitos, bem como alterações nas vias de sinalização da insulina. (Adaptado de: Costa et al., 2018).

O tecido adiposo apresenta subpopulações de células imunológicas funcionalmente distintas, de acordo com sua localização anatômica. A proximidade do PVAT com os vasos sanguíneos, as diferenças no microambiente local e a interação com outras células determinam o destino e as funções fisiológicas das células imunes nos PVATs (MAHLAKÖIV et al., 2019; KUMAR et al., 2020). As células imunológicas liberam diretamente fatores anticontráteis ou atuam estimulando a liberação de fatores relaxantes pelos adipócitos. A interleucina 10 (IL-10) e a interleucina 1 beta (IL-1 β), produzidas por macrófagos e células T regulatórias, inibem a contração das células do músculo liso vascular (MARCEAU et al., 2010; ZEMSE et al., 2010). Por sua vez, eosinófilos residentes no PVAT mesentérico (mPVAT) secretam catecolaminas que estimulam os adipócitos a produzir adiponectina e NO, por meio de receptores β 3 adrenérgicos (WITHERS et al., 2017).

Na obesidade, o aumento da hipóxia, do estresse oxidativo, o excesso de ácidos graxos livres e o aumento dos padrões moleculares associados a danos

metabólicos alteram a população imune protetora residente no tPVAT, constituída por macrófagos, linfócitos T e B, células natural killers (NK) e células dendríticas, que produzem citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias, dependendo das mudanças no perfil de adipocinas (GUZIK et al., 2017). Nesse sentido, o recrutamento de células pró-inflamatórias prejudica a função vascular (SZASZ; BOMFIM; WEBB et al., 2013; ALZAIM et al., 2020). Além disso, a composição dos macrófagos no tecido adiposo branco parece contribuir para a patogênese das doenças metabólicas (STRAND et al., 2022).

Em condição fisiológica, as citocinas anti-inflamatórias secretadas pelos macrófagos residentes atuam mantendo a sensibilidade à insulina e neutralizando as respostas inflamatórias (RUSSO; LUMENG et al., 2018). Esse efeito pode ser observado com a redução da resistência à insulina induzida pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), mediante o tratamento de adipócitos com IL-10 (LUMENG et al., 2007). Da mesma forma, a interleucina 4 (IL-4), conhecida por polarizar macrófagos anti-inflamatórios, quando administrada a camundongos obesos, reduz as respostas inflamatórias e melhora a sensibilidade à insulina (RICARDO-GONZALEZ et al., 2010).

Os monócitos e macrófagos expressam o receptor da leptina, que induz a proliferação de macrófagos e a produção de citocinas pró-inflamatórias em resposta à leptina (FERNÁNDEZ-RIEJOS et al., 2010) Enquanto que a adiponectina suprime a expressão dependente de fator nuclear kappa B (NF- κ B) de citocinas pró-inflamatórias e promove a polarização de macrófagos M2 (anti-inflamatórios) (ALVAREZ et al., 2014). Os eosinófilos residentes produzem IL-4 e interleucina 13 (IL-13) que estimulam a polarização de macrófagos, aumentam a ativação das células B e promovem a homeostase metabólica (WU et al., 2011).

Os linfócitos T desempenham papéis imunometabólicos, sendo as células T CD4+ o subtipo mais abundante no tecido visceral, tornando-se ainda mais prevalente na obesidade (KINTSCHER et al., 2008; SHIRAKAWA et al., 2016). Já os linfócitos B bloqueiam a inflamação do tecido adiposo e melhoram a tolerância à glicose por meio da indução da polarização de macrófagos M2 e do aumento da produção de IL-10, enquanto reduzem a produção de interleucina 6 (IL-6) e TNF- α (HARMON et al., 2016; SRIKAKULAPU et al., 2017).

2.2 Disfunção vascular

As alterações no PVAT observadas na obesidade prejudicam a regulação da função vascular (XIA et al., 2016). Alguns dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na disfunção vascular decorrente da obesidade estão associados a distúrbios no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e desregulação na secreção de fatores derivados do PVAT (STANEK et al., 2021).

Uma característica marcante do tecido adiposo subcutâneo de indivíduos obesos é o acúmulo de fatores inflamatórios (SKURK et al., 2007). No tecido adiposo são encontrados macrófagos M1 e M2, sendo M1 responsável pela indução do estado inflamatório crônico por meio da produção das citocinas: TNF- α , IL-6 e IL-1 β (WEISBERG et al., 2003; XU et al., 2003; MARTINEZ; GORDON, 2014). Um estudo demonstrou que a inflamação do tPVAT, com infiltração de macrófagos e células T, foi acompanhada de aterosclerose e prejuízos na biodisponibilidade de NO, importante fator vasodilatador (SKIBA et al., 2017).

No estado inflamatório observa-se, também, a desregulação de importantes adipocinas, como leptina e adiponectina. A síntese de leptina é proporcional ao tamanho dos adipócitos, de modo que, na obesidade sua produção aumenta, prejudicando seu papel regulatório no apetite (SCHROETER et al., 2013). Fisiologicamente, a leptina possui efeito anticontrátil, pois induz a síntese de NO. Entretanto, quando o endotélio é continuamente exposto a esse hormônio, ocorre diminuição de NO e aumento na proliferação de células vasculares e endoteliais (KORDA et al., 2008; HOU; LUO, 2011).

Quanto à adiponectina, na condição de obesidade, sua produção encontra-se diminuída (WEISS et al., 2004; STANEK et al., 2021). Foi demonstrado que o proliferador de peroxissomo gama (PPAR γ), regulador positivo da expressão de adiponectina, possui níveis reduzidos no PVAT de camundongos obesos (ANTONOPOULOS et al., 2014). A hipertrofia dos adipócitos não é acompanhada por angiogênese, resultando em hipóxia e produção do fator de transcrição induzido por hipóxia 1 alfa (HIF-1 α) que diminui a concentração de adiponectina (GOOSSENS et al., 2011). Trabalhos também mostram que na ausência de adiponectina, o efeito anticontrátil do PVAT reduz significativamente (LYNCH et al., 2013; WITHERS et al., 2013).

As alterações na secreção dos fatores derivados do PVAT mencionados interferem na síntese de NO, catalisada pela enzima sintase endotelial do óxido nítrico

(eNOS). De fato, a expressão de eNOS e, conseqüentemente, a biodisponibilidade de NO são reduzidas em pacientes obesos (XIA et al., 2016). A ação vasodilatadora do NO pode ser mediada pela 1) difusão nas células musculares lisas e síntese de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP); 2) modulação de canais de potássio de alta condutância dependentes de cálcio (BKCa) nas células musculares lisas, potencializando a hiperpolarização e relaxamento (WESTON et al., 2013; XIA et al., 2016). Sendo assim, o NO é um importante modulador da homeostase vascular, pois inibe a proliferação de células musculares lisas vasculares, a adesão leucocitária, a agregação plaquetária e a inflamação (MAN et al., 2023).

Em condições fisiológicas, as EROs participam como segundos mensageiros em vias de sinalização envolvidas em respostas imunes (SIES et al., 2017). As EROs são geradas pelo metabolismo celular das mitocôndrias, no sistema nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NOX) e a partir do desacoplamento da eNOS no PVAT (MAN et al., 2022). Efeitos deletérios são observados quando a produção de EROs excede a capacidade antioxidante do organismo, estabelecendo o estresse oxidativo, como ocorre na obesidade.

Os sistemas antioxidantes do PVAT, que mantêm níveis normais de EROs, incluem superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase (GR), peroxirredoxinas (Prxs) e heme oxigenase (HO). O excesso de carboidratos e ácidos graxos, comuns em dietas hipercalóricas, contribuem para o estresse oxidativo. Assim, o perfil pró-inflamatório e pró-oxidativo estabelecidos pela obesidade alteram significativamente o efeito anticontrátil do PVAT (STANEK et al., 2021; MAN et al., 2022). Outros prejuízos vasculares ocorrem pela produção excessiva do ânion superóxido (O_2^-) que altera atividade do NO. Além disso, níveis elevados de EROs induzem a proliferação e remodelação das células musculares lisas, constituindo um importante fator de risco para eventos cardiovasculares (RANI et al., 2016). (Figura 3).

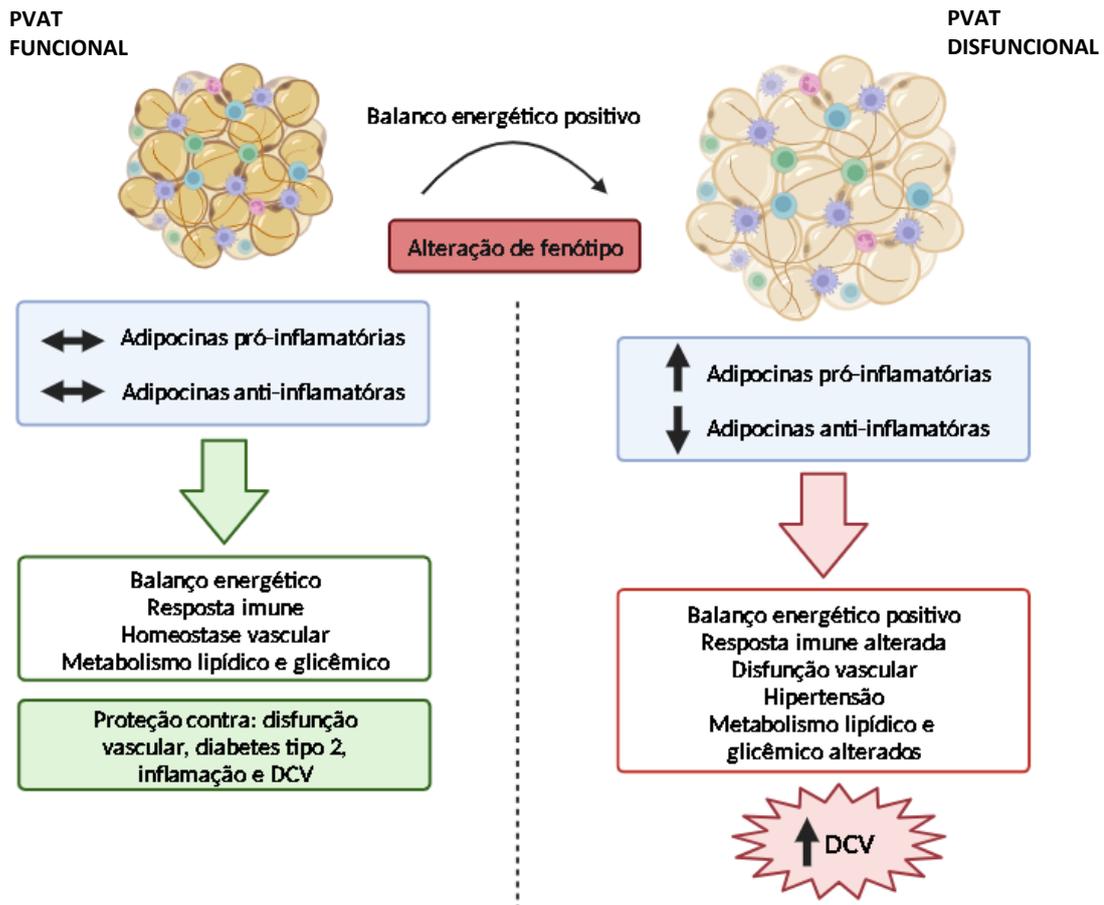


Figura 3. Mecanismos pelos quais a disfunção do tecido adiposo perivascular (PVAT) pode levar ao desenvolvimento de disfunção vascular na obesidade. Esse tecido produz adipocinas, que são secretadas no sistema circulatório e atuam em diversos processos fisiológicos, incluindo equilíbrio energético, respostas imunes, pressão arterial, homeostase vascular e angiogênese, metabolismo glicêmico e lipídico. A expansão do tecido adiposo leva à morte celular necrótica e/ou apoptótica, acompanhado pela infiltração de macrófagos ativadas, aumento da produção de adipocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (EROs), promovendo um estado de ativação sistêmica de células endoteliais e disfunção vascular. Essas condições contribuem para o elevado risco cardiovascular associado à obesidade. (Adaptado de: Costa et al., 2018).

A obesidade é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da hipertensão (BENJAMIN et al., 2017; SHOEMAKER et al., 2019). A prevalência de hipertensão arterial em adultos (entre 18 e 65 anos) no Brasil foi de 23,1% no período pré-pandemia da Covid-19 para 26,6% no primeiro trimestre de 2023. Sendo a maior prevalência observada em mulheres, com 26,5% no período pré-pandemia e 30,8% no primeiro trimestre de 2023. Enquanto que os homens, para os dois períodos, apresentaram, respectivamente 19,5% e 22,2% de hipertensos (COVITEL, 2023). A hipertensão está associada a um efeito anticontrátil prejudicado do PVAT, sugerindo que o PVAT desempenha um papel na patogênese dessa condição (ORIOWO, 2014). Estudos indicam que o sistema renina-angiotensina (SRAA) ativado é um dos

principais mecanismos responsáveis pela hipertensão na obesidade tanto em modelos experimentais, quanto em seres humanos (WANG et al., 2017).

O tecido adiposo expressa componentes do SRAA necessários para a produção do peptídeo vasoconstritor, a angiotensina II (Ang II) (SHOEMAKER et al., 2019). Estudos demonstraram que o tecido adiposo subcutâneo apresenta elevadas concentrações plasmáticas de Ang II em camundongos machos obesos hipertensos (YIANNIKOURIS et al., 2012). Em contraste, a obesidade em camundongos fêmeas foi associada a um aumento das concentrações plasmáticas do peptídeo vasodilatador angiotensina-(1-7) (Ang-1-7) (GUPTE et al., 2012). Esses resultados sugerem que o equilíbrio de Ang-(1-7) para Ang II, regulado pela enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), é diferente em machos e fêmeas, contribuindo para as diferenças sexuais no desenvolvimento da hipertensão induzida pela obesidade (SHOEMAKER et al., 2019).

Outros mecanismos, como a diminuição na liberação de fatores relaxantes derivados do PVAT, ou prejuízos na expressão e na função dos canais Kv no músculo liso vascular, também estão implicados na patogênese da hipertensão (ORIOU et al., 2014). Um estudo em ratos machos demonstrou que o efeito vasodilatador da leptina na vasoconstrição induzida pela angiotensina II foi atenuado em segmentos de artéria de animais espontaneamente hipertensos (SHR) (RODRIGUEZ et al., 2006). Assim, sugerindo que a perda da resposta vasodilatadora à leptina na hipertensão ocorre no nível do PVAT e do músculo liso vascular. Além disso, a inflamação vascular é uma característica proeminente da hipertensão, no qual macrófagos se acumulam na parede vascular (CHAN et al., 2012). Foi demonstrado que a depleção de monócitos, precursores de macrófagos, preveniu a hipertensão induzida em camundongos (Wenzel et al., 2011).

Nesse contexto, é possível que o aumento nos níveis de TNF- α na hipertensão seja consequência da menor liberação de Ang 1-7. Essa secreção aumentada de TNF- α também pode levar a uma redução na secreção de adiponectina e NO pelo PVAT. Assim, o PVAT desempenha papel significativo na patogênese da hipertensão ao aumentar a liberação de fatores pró-contráteis, ao mesmo tempo em que reduz a geração de fatores relaxantes (ORIOU et al., 2014; HU et al., 2020).

2.3 Dimorfismo sexual

Os mecanismos que controlam a função cardiovascular diferem entre homens e mulheres, de modo que o risco de doenças cardiovasculares em decorrência da obesidade, é diferente entre os sexos (LIMA; WOFFORD; RECKELHOFF, 2012). Já foi demonstrado que o estrogênio atua como vasodilatador, inibindo o sistema nervoso simpático e regulando o SRAA. Assim, esse efeito estrogênico protetor consiste em um dos mecanismos que reflete as diferenças dependentes do sexo (SMALL et al., 2019).

Os hormônios sexuais estão envolvidos no controle da função endotelial e no perfil secretor do PVAT e, conseqüentemente, na homeostase vascular. No endotélio, tanto o estrogênio, quanto a testosterona ativam a eNOS e reduzem a atividade enzimática da NADPH e da enzima conversora de angiotensina (NOFER et al., 2012; LOPES et al., 2012; VICTORIO et al., 2020). No PVAT, esses hormônios regulam positivamente a produção de fatores relaxantes como o NO, H₂O₂, prostaciclina (PGI₂) e bradicinina (MENDIZÁBAL; LLORENS; NAVA, 2013). Nesse sentido, um trabalho demonstrou que as respostas vasodilatadoras mediadas por PVAT em arteríolas mesentéricas são atenuadas em ratas ovariectomizadas (WANG et al., 2014).

Diferenças sexuais são observadas quanto à morfologia do PVAT (CONTREAS et al., 2016; AHMAD; RANDALL; ROBERTS, 2017; VICTORIO et al., 2020). Estudos em camundongos mostraram que no aPVAT e no mPVAT de machos os adipócitos brancos estão presentes em maior número e tamanho, em comparação às fêmeas (VICTORIO et al., 2020; VICTORIO et al., 2021). O dimorfismo sexual pode ser observado inclusive nas células progenitoras de adipócitos (APC), que expressam CD34, importante mediador do tráfego e da morfogênese celular. As fêmeas possuem menor quantidade de células CD34+ em aPVAT, mPVAT e tecido adiposo perigonadal (GON) em comparação aos machos (CONTREAS et al., 2016). Em ratos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica, o mPVAT de fêmeas exibe um número maior de células TCD4 em comparação aos machos (KUMAR et al., 2020). Assim, o perfil de células imunes também difere entre os sexos, corroborando com as diferenças na susceptibilidade a doenças.

Além disso, mecanismos envolvidos na função anticontrátil do PVAT apresentam diferenças sexuais. Foi demonstrado que em machos, o efeito

anticontrátil do PVAT em artéria mesentérica ocorre a partir da ativação da proteína quinase dependente de cGMP do músculo liso (PKG) (WITHERS et al., 2013) e dos canais para o potássio (K^+) (LOHN et al., 2002). Por outro lado, o PVAT nas fêmeas pode desempenhar efeito anticontrátil e/ou potencializar o relaxamento dependente do endotélio, como observado na aorta de ratos (AL-JARALLAH; ORIOWO, 2016). Esses efeitos em estão associados à produção de NO, ativação de canais para o K^+ dependentes de voltagem do tipo KCNQ nas células do músculo liso e aumento da vasodilatação induzida pela insulina (MEIJER et al., 2015).

Os efeitos da obesidade no PVAT também são dependentes do sexo. Um estudo recente alimentou camundongos machos e fêmeas com dieta hipercalórica e o resultado mostrou que a função anticontrátil do mPVAT foi preservada em machos, mas prejudicada em fêmeas (VICTORIO et al., 2021). Ainda, a dieta contendo sacarose resultou em disfunção endotelial mais precocemente em fêmeas, prejudicando o relaxamento dependente de endotélio. Nesse contexto, o efeito anticontrátil do NO é mais pronunciado em machos, enquanto que, nas fêmeas é mais evidente a ação do fator hiperpolarizante do endotélio (EDHF). Sugerindo, assim, que o mPVAT de fêmeas é mais suscetível à disfunção induzida pela obesidade, em comparação aos machos (VICTORIO et al., 2021).

O conhecimento sobre a especificidade sexual em modelos animais, considerando vias de sinalização e fisiologia, é essencial para a compreensão de mecanismos fisiopatológicos e possíveis abordagens preventivas ou terapêuticas (VENTURA-CLAPIER et al., 2017). De modo geral, a literatura revela uma lacuna de estudos envolvendo fêmeas, e conseqüentemente na compreensão das diferenças sexuais na regulação cardiovascular e seus impactos quanto ao risco de doenças relacionadas à obesidade, evidenciando a necessidade de mais pesquisas em modelos animais de fêmeas para elucidação desses mecanismos.

2.4 Exercício físico aeróbio

Entre 2020 e 2030, estima-se que cerca de 500 milhões de pessoas irão desenvolver doenças cardíacas, obesidade, diabetes ou outras doenças não transmissíveis devido à falta de atividade física (OMS, 2022). Entre as estratégias e terapias que podem influenciar no controle da obesidade, destaca-se o treinamento físico aeróbio (LAVIE et al., 2015). Nesse contexto, diversas organizações de saúde no mundo têm recomendado a prática regular de exercícios físicos como uma intervenção importante para saúde da população (OMS, 2022).

A atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pela contração do músculo estriado esquelético que resulte em aumento substancial do gasto energético em repouso, com conseqüente aumento no consumo de oxigênio devido à demanda muscular. Além disso, exercício físico é um tipo de atividade física, que consiste em movimentos corporais planejados, estruturados e repetitivos, realizados para manutenção ou melhora de um ou mais componentes do condicionamento físico (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985).

O exercício físico leva a uma variedade de alterações no sistema cardiovascular para manter o aumento da demanda metabólica associada à contração muscular. O exercício físico é reconhecido pelo organismo com o envolvimento de respostas homeostáticas complexas, conhecidas como efeitos agudos ou respostas fisiológicas ao exercício (Figura 4). Assim, a prática repetitiva e regular de exercícios desencadeia modificações morfológicas e funcionais, conhecidas como efeitos crônicos do exercício (DA NOBREGA, 2005). Está bem estabelecido que o exercício aeróbio, envolvendo grandes grupos musculares é recomendado para a manutenção ou melhoria da aptidão cardiovascular (GARBER et al., 2011).

A intensidade do exercício físico pode determinar o grau de benefício no sistema cardiovascular, sabe-se que o treinamento físico aeróbio de moderada intensidade, realizado continuamente, promove efeitos benéficos tanto na prevenção quanto no tratamento das doenças cardiovasculares e endócrino-metabólicas (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004; KO et al., 2022; SHI et al., 2022). Efeitos já bem documentados do exercício físico aeróbio demonstram sua capacidade em promover uma série de respostas fisiológicas nos sistemas (FIUZA-LUCES et al., 2018).

Foi demonstrado que o exercício físico agudo de moderada intensidade estimula importantes propriedades anti-inflamatórias, que atuam melhorando a ação da insulina e reduzindo a inflamação na fração vascular estromal (SVF) do tecido adiposo epididimal (OLIVEIRA et al., 2013). Além disso, a prática regular de exercício aeróbio de moderada intensidade reduz a gordura corporal, a hipertrofia dos adipócitos e, conseqüentemente, o número de células inflamatórias contidas no tecido adiposo epididimal (KAWANISHI et al., 2013). Sugere-se que o possível mecanismo pelo qual o exercício pode reduzir a inflamação do PVAT consiste na regulação negativa da expressão do receptor toll like 4 (TLR4) em monócitos e macrófagos (GLEESON et al., 2011; BOA et al., 2017).

Foi demonstrado que o exercício físico aeróbio induz a mudança fenotípica de macrófagos M1 (pró-inflamatórios) para M2 (anti-inflamatórios) (KAWANISHI et al., 2010; KAWANISHI et al., 2013). Em camundongos machos, alimentados com dieta hiperlipídica e treinados em esteira (12-20 m/min), observou-se redução da expressão de TNF- α , IL-6, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM1) e molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM1), CD11c e TLR4; e aumento da expressão do marcador de M2 (CD163) (KAWANISHI et al., 2010) no tecido adiposo gonadal. Demonstrando que o exercício físico aeróbio pode prevenir a infiltração de células imunes no PVAT, melhorando a sensibilidade à insulina e a função vascular (BOA et al., 2017).

Outro processo associado aos efeitos do exercício físico é o *browning* do tecido adiposo. Maiores quantidades de adipócitos marrom ou bege são indicativos de um fenótipo metabolicamente saudável (MIN et al., 2016). O processo de *browning* do tecido adiposo é mediado pelas adipocinas do TAB e pela ativação de receptores do peptídeo natriurético (NPR) (MORRISON, 2011). Foi demonstrado que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada (1 ou 6 semanas) em ratos Sprague Dawley aumentou o tônus adrenérgico simpático, tornou uniforme a distribuição de gotículas lipídicas e aumentou a expressão de UCP-1 em adipócitos marrons da região visceral (DE MATTEIS et al., 2013).

Com relação à função vascular, os efeitos do treinamento físico aeróbio nas melhorias da função endotelial são decorrentes da força de cisalhamento. Esse estresse mecânico é gerado pelo fluxo sanguíneo e estimula a vasodilatação dependente do endotélio por meio do aumento da síntese de NO (FIUZA-LUCES et al., 2018). O exercício físico aeróbio aumenta a produção e/ou biodisponibilidade de NO, aumentando a expressão da enzima eNOS, pela via de sinalização da fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K)–RAC- α serina/treonina-proteína quinase (AKT) (HAMBRECHT et al., 2003; FIUZA-LUCES et al., 2018).

Outro mecanismo pelo qual o treinamento físico aeróbio, em intensidade moderada, parece melhorar a biodisponibilidade de NO envolve a sinalização mediada por receptores beta 3-adrenérgicos (β 3AR) e a ativação de eNOS nos adipócitos (MEZIAT et al., 2019). O exercício aumenta a expressão de β 3AR, potencializando a síntese de NO em resposta ao estresse adrenérgico (CALVERT et al., 2011). Em contrapartida, a obesidade reduz o nível desses receptores (KLEINDIENST et al., 2016).

O estresse oxidativo pode causar lesão celular e tecidual, além de contribuir para a disfunção vascular. O desbalanço entre as defesas antioxidantes do organismo resulta em excesso de EROs, que ao reagir com NO, diminui sua biodisponibilidade (ARAÚJO et al., 2018). O exercício aeróbio de intensidade moderada promove aumento nos níveis antioxidantes, melhorando a adaptação ao estresse oxidativo (KORSAGER; MATCHKOV, 2015). A adiponectina também desempenha importante papel nessa configuração, pois ativa a eNOS na parede vascular e modula a produção de EROs (WHITERS et al., 2013). Um trabalho, utilizando ratos obesos, mostrou que o treinamento físico aeróbio em moderada intensidade foi capaz de promover aumento dos níveis de eNOS e de adiponectina no tPVAT, e reduziu a produção de EROs na parede vascular (MEZIAT et al., 2019).

Estudos realizados em nosso laboratório, demonstraram que o aumento de EROs no tPVAT e da artéria femoral de camundongos machos obesos é reduzido com o treinamento físico aeróbio de moderada intensidade (SOUSA et al., 2019; SOUSA et al., 2021). Outro estudo, em camundongos machos, mostrou que a biossíntese de NO e a ativação da via de sinalização Akt/eNOS no tPVAT foram melhoradas com 17 semanas de exercício aeróbio de intensidade moderada (WANG et al., 2023). Também é encontrado que o exercício físico normaliza a expressão de iNOS no tPVAT de ratos Wistar machos e previne alterações da obesidade (ARAÚJO et al., 2018).

Durante a prática de exercício macronutrientes são mobilizados para suprir o aumento da demanda energética, esse processo impede o estresse metabólico nas células do tecido adiposo e, conseqüentemente, sua transição para um estado senescente. Foi demonstrado que o exercício aeróbio de baixa intensidade previne a senescência precoce em camundongos machos de meia idade alimentados com dieta hiperlipídica, com redução da expressão gênica de p16, p21 e p56 no tecido adiposo visceral, bem como, da marcação de β -gal (SCHAFER et al., 2016). Além disso, o exercício previne os danos no DNA, o encurtamento dos telômeros, o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial em vários tipos de células; gerando, assim, um efeito protetor contra os estímulos da senescência celular (SAFDAR et al., 2011; SCHAFER et al., 2016; CARAPETO; MAZZUCATO, 2021).

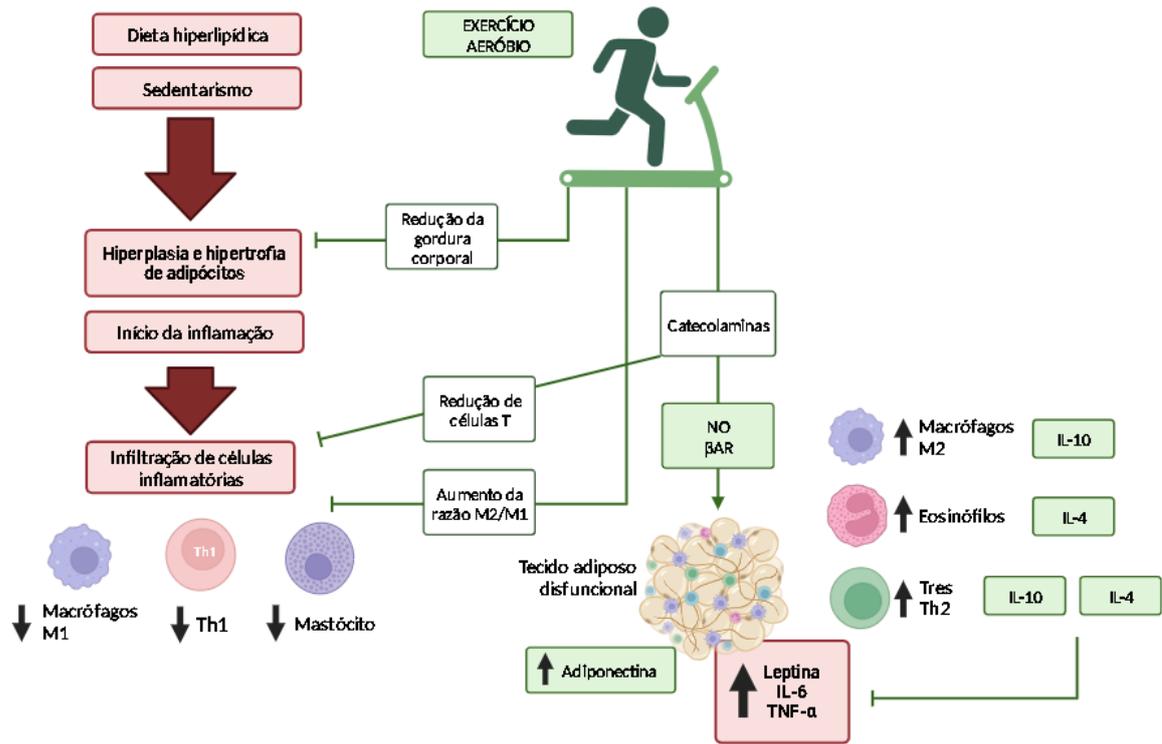


Figura 4. Efeitos do exercício físico aeróbio de moderada intensidade nas vias de sinalização envolvidas na disfunção do tecido adiposo (TA). A alimentação com dieta hiperlipídica (obesidade) e um estilo de vida sedentário alteram a morfologia do TA: hipertrofia e hiperplasia de adipócitos. Nessa condição, o TA apresenta hipoperfusão, inflamação e remodelamento, com consequente infiltração de células inflamatórias e secreção anormal de adipocinas. O exercício exerce um efeito anti-inflamatório no TA disfuncional, através da ativação do sistema nervoso central e liberação de miocinas. O resultado consiste em redução de TA e um fenótipo funcional e metabólico melhorado. Receptor beta adrenérgico (β AR). (Adaptado de: Boa et al., 2017).

Apesar da utilização de modelos animais ter proporcionado uma significativa compreensão dos mecanismos adaptativos ao exercício físico, ainda são escassos os estudos na literatura que abordam esses efeitos em fêmeas (ANGELIS et al., 2017). Nesse contexto, para a condução efetiva de estudos na área, faz-se necessário o estabelecimento de protocolos reprodutíveis e capazes de responder aos objetivos, considerando as diferenças sexuais (SANTOS et al., 2021). Sendo assim, a padronização de um protocolo de treinamento físico aeróbio em modelo experimental de fêmeas é essencial para garantir a confiabilidade dos resultados.

Foi demonstrado que o exercício de corrida em esteira ergométrica permite uma maior compreensão sobre o esforço máximo e uniformidade do dinamismo dos camundongos entre as raias na corrida, ao ter controle da velocidade, duração e distância percorrida pelo animal (KEVIN, 2006). Porém, poucos protocolos disponíveis na literatura utilizam esteiras ergométricas para o treinamento físico aeróbio de fêmeas da linhagem C57BL/6J (BUCHAN et al., 2018; Le GARF et al., 2019; YANG et al., 2021; LI et al., 2022; McGOWAN et al., 2022), pois os estudos foram

majoritariamente realizados em machos, com padronização da intensidade de treinamento utilizando a máxima fase estável de lactato, ou a velocidade máxima de corrida em teste incremental (FERREIRA et al., 2007) ou ainda o consumo máximo de oxigênio (HOYDAL et al., 2007).

Ações usuais na padronização dos protocolos devem ser mantidas para machos e fêmeas, tais como, o período de adaptação, considerado importante para a habituação do animal, tanto com o local, quanto com os pesquisadores do projeto; o teste de esforço máximo, para controle da intensidade e efetividade do treinamento; além de, no mínimo dois pesquisadores nos treinos, um responsável pelos animais e o outro pelos dados a serem coletados, a fim de garantir o bem-estar do animal. O treinamento pode ser prescrito de forma contínua, mantendo-se a intensidade durante toda sessão, como também utilizar modelos de periodização, garantindo um estímulo eficaz (COSTA-SANTOS et al., 2021). Geralmente, as sessões de treinos ocorrem em intensidade baixa ou moderada e com duração de 30 a 60 minutos. Os principais fatores que divergem entre os estudos consistem na velocidade de treinamento e na inclinação da esteira, cujos ajustes são feitos de acordo com os respectivos objetivos.

3. HIPÓTESE E OBJETIVO

3.1 Hipótese

Nossa hipótese é de que a obesidade induza alterações morfológicas e do perfil de células imune no tPVAT, além de aumentar o estresse oxidativo e os fatores pró-inflamatórios circulantes em camundongos fêmeas e que o exercício físico aeróbio de intensidade moderada, desempenha efeito na morfologia e no perfil de células imune do tPVAT, além de reduzir os níveis de estresse oxidativo e inflamação característicos da obesidade.

3.2. Objetivos

O efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada no tPVAT de fêmeas obesas ainda não é encontrado na literatura. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar as alterações estruturais e moleculares induzidas pela obesidade no tPAVT de camundongos fêmeas, com ênfase nos biomarcadores inflamatórios, do estresse oxidativo e da resposta imune. Além de investigar os efeitos do treinamento físico aeróbio de moderada intensidade no tPVAT, visando normalizar as alterações decorrentes da obesidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (CEUA-IB/UNICAMP – Protocolo: 5849-1/2021).

Camundongos fêmeas C57BL/6 JUnib com quatro semanas de idade foram fornecidos pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP) e foram mantidos no Biotério-1 da Área de Fisiologia e Biofísica do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional do Instituto de Biologia da (IB/UNICAMP). Os animais com oito semanas de idade foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

1. Controle sedentária (SD, n = 26): fêmeas sedentárias e alimentadas com ração comercial controle;
2. Controle treinada (TR, n = 22): fêmeas submetidas ao treinamento físico aeróbio e alimentadas com ração comercial controle;
3. Obesa e sedentária (OB/SD, n = 27): fêmeas sedentárias e alimentadas com dieta hiperlipídica;
4. Obesa e treinada (OB/TR, n = 22): fêmeas submetidas ao treinamento físico aeróbio e alimentadas com dieta hiperlipídica.

Todos os animais foram mantidos em salas com temperatura entre 20-21°C, ciclo normal de 12 horas claro/escuro, caixas coletivas com dois ou três animais em cada, livre acesso à água, e alimentação padrão (composta por 64% de carboidratos, 22% de proteínas e 4% de lipídios, 3,6 kcal/grama, Nuvilab CR1, Brasil) ou hiperlipídica (composta por 32% de carboidratos, 20 % de proteínas e 38 % de lipídios 6,2 kcal/grama, PragSoluções Biociências, Brasil, SOUSA et al., 2019). A indução da obesidade foi verificada pelo aumento progressivo do peso corporal e, ao final do protocolo, pelo peso do tecido adiposo perigonadal.

Ao início do protocolo os animais dos grupos OB/SD e OB/TR receberam alimentação hiperlipídica por 8 semanas para o desenvolvimento de adiposidade. Após este período, apenas o grupo OB/TR iniciou o protocolo de treinamento físico aeróbio de corrida em esteira ergométrica com duração de 8 semanas. Em ambos os grupos, a alimentação hiperlipídica teve continuidade por mais 8 semanas, totalizando

assim 16 semanas de protocolo experimental. O mesmo protocolo foi aplicado para os grupos controle, SD e TR, no entanto foi fornecida alimentação padrão (Figura 5).

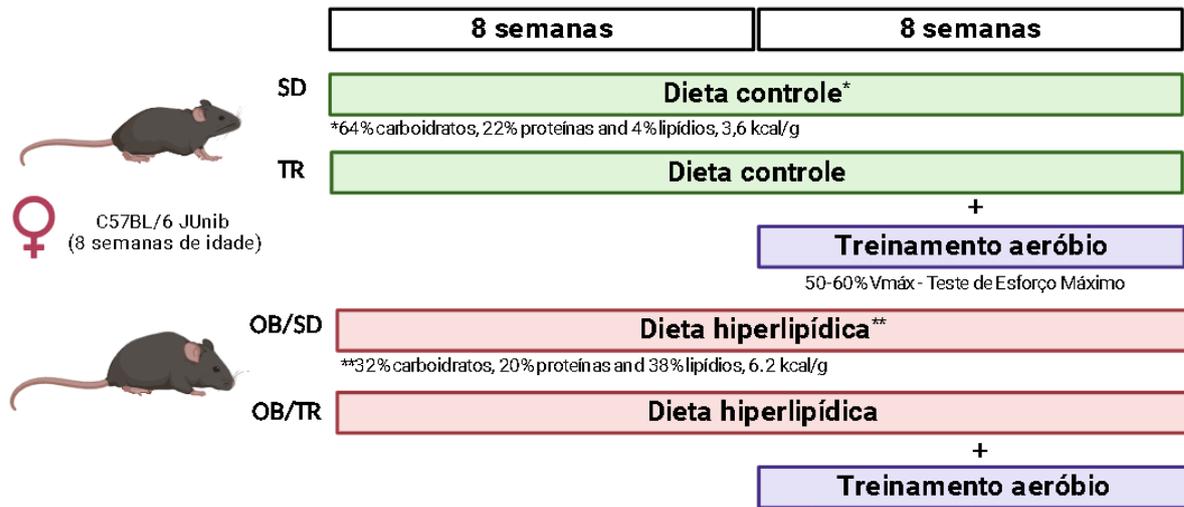


Figura 5. Protocolo experimental.

4.2 Peso corporal, consumo hídrico e consumo alimentar

O peso corporal, o consumo hídrico e consumo alimentar dos animais foram mensurados ao início do protocolo experimental e semanalmente até o final do protocolo. O consumo alimentar foi mensurado pela pesagem das dietas controle ou hiperlipídica ao início e ao fim da semana, sendo calculada a quilocaloria (kcal) dividida pelo número de animais na caixa. O mesmo foi feito para o consumo hídrico, cujo volume de água resultante foi verificado utilizando uma proveta.

4.3 Pressão arterial sistólica e frequência cardíaca

A pressão arterial sistólica e frequência cardíaca dos animais foram mensuradas ao início do protocolo experimental e nas semanas 8 e 16, usando o método não invasivo de pletismografia de cauda para camundongos (Pressure meter, LE5001, Panlab-Harvard Apparatus, Espanha). Para evitar coincidir com os horários de treinamento, as medidas foram realizadas no período da tarde entre 13:00 e 15:00 horas.

Previamente ao experimento, os animais passaram por um período de 4 dias de habituação, que consistiu em encorajá-los a entrar e permanecer dentro do contensor, aquecido por um termostato a temperatura de 33 a 35 °C, durante 5 minutos. No quinto dia, antes do início do experimento, os animais foram mantidos por uma hora no laboratório de medida. Para o protocolo foram feitas 20 medições em

cada animal, sendo as primeiras 5, excluídas. Assim, cada valor foi expresso a partir da média das 15 medidas restantes (WILDE et al., 2017).

4.4 Treinamento físico aeróbio

O treinamento físico empregado foi o de corrida em esteira ergométrica para camundongos (AVS Projetos, Brasil). Na semana anterior ao início do protocolo experimental os animais passaram por um período de adaptação à esteira, cuja velocidade imposta variou de 3 metros/minuto (m/min) a 9 m/min e o tempo entre 20 min no primeiro dia e 30 min no quarto dia. Somente os animais adaptados à esteira foram utilizados no estudo (Tabela 1).

Tabela 1: Descrição da velocidade e do tempo no protocolo de adaptação à esteira.

DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5
5 min - 3 m/min	5 min - 6 m/min	5 min - 6 m/min	5 min - 6 m/min	Teste de Esforço Máximo
15 min - 6 m/min	5 min - 9 m/min	10 min - 9 m/min	10 min - 9 m/min	
	15 min - 6 m/min	15 min - 6 m/min	15 min - 6 m/min	

Legenda: minutos (min); metros por minutos (m/min).

No quinto dia da semana de adaptação os animais realizaram o teste de esforço máximo em que a velocidade da esteira foi aumentada em 3 m/min (iniciando em 6 m/min) a cada 3 min, 0 % de inclinação até a exaustão (FERREIRA et al., 2007). O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o camundongo não foi mais capaz de correr mediante incremento da velocidade da esteira (BROOKS et al., 1978). A velocidade máxima (VMAX) atingida foi utilizada para padronizar o protocolo de treinamento físico com intensidade moderada, entre 50 a 60% da VMAX.

Na primeira semana, o treinamento começou com uma velocidade de 9 m/min aumentando gradualmente até alcançar a velocidade final, entre 50 e 60% da VMAX. Aumentos progressivos na duração das sessões foram feitos até que os animais fossem capazes de correr por 60 minutos. É importante destacar que os animais foram agrupados para o treinamento conforme a velocidade de treinamento. Após 4 semanas de treinamento físico, foi realizado teste de esforço máximo para eventual necessidade de ajuste da carga de trabalho (para manutenção da intensidade imposta).

O programa teve duração total de 8 semanas de treinamento físico em esteira, 5 dias por semana, com duração de 60 min por sessão e velocidade distribuída

da seguinte maneira: 10 min a 40 % da VMAX, 40 min a 50-60 % da VMAX e 10 min a 40 % da VMAX, 0% de inclinação e sempre no período da manhã.

Para avaliar a eficácia do treinamento físico ao final do protocolo, todos os animais, sedentários e treinados, foram submetidos ao teste de esforço máximo, onde o tempo total, distância total e velocidade máxima foram calculadas.

Ao final do período de treinamento, os animais foram mantidos em repouso por 48 horas (para verificação dos efeitos crônicos do treinamento físico) e jejum de 12 horas.

4.5 Medida de glicemia, obtenção das amostras de soro e tecido

A glicose sanguínea em jejum foi medida a partir de uma gota de sangue da cauda, utilizando fitas reativas de teste (Advantage Roche, Brasil) e um monitor digital de glicemia (Advantage Roche) seguindo as instruções do fabricante.

Os animais foram anestesiados com cetamina 80mg/kg e xilazina 10 mg/kg intraperitoneal. As amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca, centrifugadas por 15 minutos a 10000 rotações/minuto para obtenção do soro e congeladas em freezer -80 °C. A eutanásia foi realizada após exsanguinação por aprofundamento da anestesia. A aorta torácica na presença do PVAT foi retirada e mantida em solução preparada de Krebs contendo (mM): NaCl- 118; NaHCO₃- 25; glicose- 5,6; KCl- 4,7; KH₂PO₄- 1,2; MgSO₄.7H₂O- 1,17 e CaCl₂.2H₂O- 2,5. Anéis de aorta com PVAT foram coletados para histologia e amostras de PVAT isolado foram congeladas em freezer -80 °C para eventuais análises. Além disso, o tecido adiposo branco da região perigonadal foi coletado e pesado para avaliação da indução de adiposidade. Também foram coletados úteros e ovários para pesagem. O peso dos órgãos e tecidos foi corrigido pelo comprimento da tibia, medido com um paquímetro.

4.6 Determinação de fatores bioquímicos

Amostras de soro foram utilizadas para determinação de fatores bioquímicos pelo método de ELISA utilizando kit comercial e seguindo as instruções do fabricante. Foram determinadas as concentrações de 17 β -estradiol (#KB30, Arbor Assays, Ann Arbor, Estados Unidos), leptina (ELM-Leptin-1, RayBiotech, Estados Unidos), adiponectina (ELM-Adiponectin, RayBiotech) e TNF- α (MHSTA50, R&D Systems, Estados Unidos). Por fim, amostras de soro foram utilizadas para avaliar a peroxidação lipídica pelo método colorimétrico utilizando kit comercial (10009055, Cayman, Estados Unidos).

Amostras de PVAT da aorta torácica foram coletadas e homogeneizadas em 100µL de tampão RIPA, utilizando o TissueLyser LT (QIAGEN). Em seguida, o homogenato foi centrifugado e o sobrenadante coletado. A quantificação das proteínas foi realizada com kit (BCA – Protein Assay, Pierce Protein Research Prod. #23227). Para dosagem de adiponectina e leptina no tPVAT foram utilizadas amostras na concentração de 0,02 µg/µL (20 ug de proteína em 100 uL de diluente) em kit comercial (ELM-Adiponectin, ELM-Leptin-1 RayBiotech). Para a dosagem de TNF-α no tPVAT foram utilizadas amostras na concentração de 0,01 µg/µL (10 ug de proteína em 100 uL de diluente) também em kit comercial (MHSTA50, R&D Systems, Estados Unidos).

4.7 Histologia

Amostras de aorta torácica com PVAT foram fixadas por imersão em paraformaldeído 4% em solução-tampão de fosfato salino 0,1M (PBS, pH 7,4), a 4°C. Em seguida, as amostras foram lavadas em solução-tampão e desidratadas em bateria de álcoois e embebidas em Historresina (Leica Microsystems Heidelberg, Alemanha), de acordo com instruções do fabricante. Cortes de 5 µm foram corados pelo método de hematoxilina e eosina-floxina B 1%. Os materiais foram documentados em fotomicroscópio Eclipse 800 (Nikon, Japão), utilizando-se a câmera digital P6FL PRO (Optika, Itália) (BENNETT et al., 1976; CASTELUCCI et al., 2019). As imagens obtidas foram quantificadas utilizando o software ImageJ (National Institute of Health, Estados Unidos). A quantificação do percentual de gordura presente na área tecidual foi adaptada de método previamente descrito (PARLEE et al., 2014).

4.8 Citometria de fluxo

Amostras de PVAT da aorta torácica foram coletadas e a fração vascular estromal (SVF) isolada de acordo com protocolo adaptado (THELEN et al., 2017). Durante as coletas, o tPVAT foi mantido no gelo em solução KRBB, pH=7,4 (NaCl 135mM; KCl 5mM; MgSO₄ 1mM; KH₂PO₄ 0,4mM; antibiótico/ antimicótico (Vitrocell, Brasil) 1% (10000u/ml de penicilina, 10000ug/ml estreptomicina, 25ug/ml anfotericina B); HEPES 10mM). Cada amostra de tPVAT foi pesada e picotada em tubo contendo KRBB. Na capela de fluxo laminar, o KRBB foi substituído por solução de colagenase tipo 1 (1mg de colagenase tipo 1 (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), 1mL de KRBB e 4% BSA) na proporção de 1mL para cada 50mg de tecido. Em seguida, as amostras foram incubadas a 37°C em agitador por 1h para digestão. Novamente na capela de

fluxo laminar, o material digerido foi filtrado sequencialmente em filtros (Corning, Estados Unidos) de células de 100µm e 40µm para tubos de centrifuga de 50mL. O filtrado resultante foi centrifugado a 4°C por 10min a 1640rpm e os pellets contendo as células do SVF foram ressuspensos em 1mL de solução tampão de lise de eritrócitos 1X (Transgen Biotech, China) em incubação protegida da luz, durante 5 minutos em temperatura ambiente (THELEN et al., 2017). As amostras foram novamente centrifugadas e ressuspensas em 500µL de Wash Buffer (PBS 10X; NaN₃ 1M; BSA).

Em uma placa estéril de 96 poços (NEST Biotechnology Co, China), foram adicionados 50µL da amostra preparada e os respectivos anticorpos. Assim, as populações de células imune no tPVAT foram determinadas por marcação específica: macrófagos totais (F4/80+, CD11b+), macrófago pró-inflamatório M1 (F4/80+, CD11b+, CD11c+), macrófago anti-inflamatório M2 (F4/80+, CD11b+ CD206+), eosinófilos (CD11b+, SiglecF+), células dendríticas (CD11c+, MHCII+, CD47+), células T (CD4+), Treg (TCRβ+, CD4+, Foxp3+), células natural killer (TCRβ-, NK1.1) e células B (TCRβ-, CD19+) em citômetro de fluxo (NovoCyte – ACEA, Bioscience). O experimento foi realizado em colaboração com a Dra. Lilian de Oliveira Coser e com o Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira (Laboratório de Regeneração Nervosa, IB/UNICAMP).

4.9 Análise Estatística

Os valores experimentais foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) de n experimentos indicados em cada caso. Análise de variância, ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni, foi empregada para avaliar diferenças entre os grupos experimentais, utilizando o programa GraphPadPrism (GraphPad Software, Estados Unidos). Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

5. RESULTADOS

5.1 Teste de esforço máximo e eficácia do Protocolo de treinamento físico

O teste de esforço máximo inicial (pré-treinamento) foi realizado para determinação da velocidade de treinamento em intensidade moderada para os grupos TR e OB/TR, além de determinar a distância e o tempo total (Tabela 2). Os animais dos grupos SD e TR apresentaram resultados similares para as variáveis analisadas. Os animais dos grupos OB/SD e OB/TR apresentaram redução da capacidade de

exercício em todas as variáveis analisadas quando comparados aos grupos SD e TR, respectivamente (Tabela 2).

A intensidade moderada do treinamento físico aeróbio para o grupo TR foi determinada no intervalo entre 14,3 m/min a 17,2 m/min, correspondente a 50-60% da VMAX. A intensidade moderada do treinamento físico aeróbio para o grupo OB/TR foi determinada no intervalo entre 11,7 m/min a 14,1 m/min, correspondente a 50-60% da VMAX.

O teste de esforço máximo foi realizado novamente em todos os grupos experimentais ao final do protocolo experimental (pós-treinamento). Os animais dos grupos TR e OB/TR apresentaram aumento das variáveis analisadas quando comparados aos grupos SD e OB/SD, respectivamente, demonstrando assim melhora da capacidade de exercício (Tabela 2). Os grupos OB/SD e OB/TR apresentaram redução da capacidade de exercício em todas as variáveis quando comparados aos respectivos grupos controle, SD e TR (Tabela 2).

Tabela 2: Valores do teste de esforço máximo pré e pós-treinamento: tempo total (minutos), distância total (metros) e velocidade máxima (m/min). Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR).

Grupos	Pré-treinamento			Pós-treinamento		
	Tempo (min)	Distância (m)	V máx. (m/min)	Tempo (min)	Distância (m)	V máx. (m/min)
SD	22,5±1,2	411,0±32,4	27,6±1,1	20,6±1,1	360,5±31,2	25,4±1,1
TR	24,7±0,9	473,3±30,6	29,4±1,0	28,8±1,4*	610,8±45,9*	32,9±1,5*
OB/SD	17,7±1,1*	279,4±23,8*	22,7±1,0*	13,2±0,8*	177,9±15,6*	17,7±0,9*
OB/TR	17,7±0,9#	276,3±20,6#	22,5±0,9#	17,9±0,8#†	283,4±19,0#†	22,7±0,7#†

Valores apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: *p<0,05 comparado ao SD; #p<0,05 comparado ao TR; †p<0,05 comparado ao OB/SD. N= 22 a 27 animais.

5.2 Parâmetros corporais, consumo hídrico e alimentar

O peso no início do protocolo experimental foi semelhante em todos os grupos experimentais (Tabela 3 e Figura 6). Após 2 semanas de alimentação hiperlipídica, houve um aumento significativo no peso corporal dos animais dos grupos OB/SD e OB/TR em comparação aos grupos SD e TR, respectivamente (Figura 6). Após 8 semanas, o aumento no peso corporal dos grupos OB/SD e OB/TR foi de aproximadamente 64% e 55% em comparação aos grupos SD e TR, respectivamente (Tabela 3). E ao final do protocolo, após 16 semanas, o aumento no peso corporal dos

grupos OB/SD e OB/TR foi de aproximadamente 91% e 88% em comparação aos grupos SD e TR, respectivamente (Tabela 3). Demonstrando que a alimentação hiperlipídica empregada foi eficaz na indução do modelo de obesidade. Adicionalmente, o peso do tecido adiposo perigonadal, corrigido pelo comprimento da tíbia, foi maior nos grupos OB/SD e OB/TR, quando comparados aos seus controles. O treinamento físico aeróbio de intensidade moderada não apresentou efeito significativo na redução do peso corporal e do peso do tecido adipoperigonadal, quando comparados os grupos OB/TR e OB/SD.

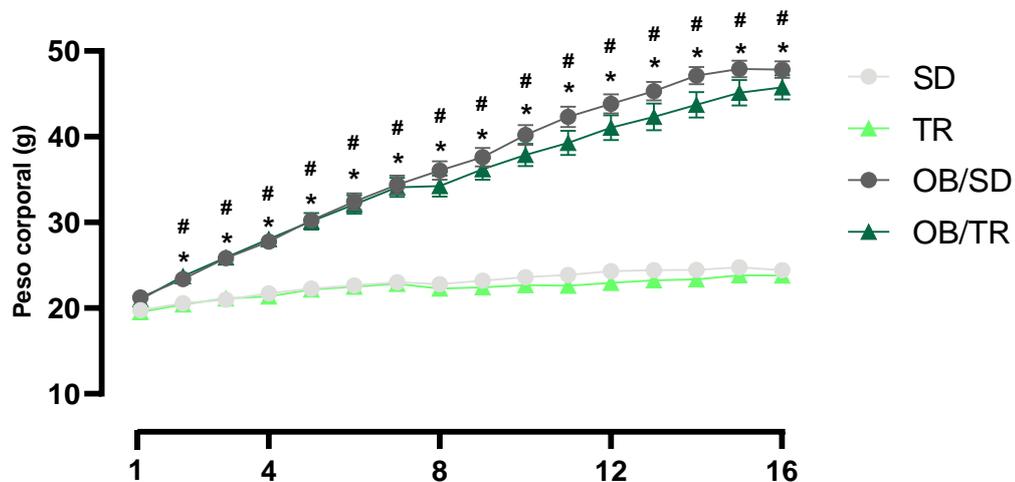


Figura 6. Peso corporal semanal. Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR). Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: * $p < 0,05$ comparado ao SD; # $p < 0,05$ comparado ao TR. N = 20 a 30 animais.

A medida de glicemia em jejum demonstrou que a concentração de glicose é maior nos animais dos grupos OB/SD e OB/TR, em comparação aos seus respectivos controles, SD e TR (Tabela 3). Em relação ao consumo alimentar, os animais que receberam alimentação hiperlipídica tiveram maior ingestão calórica diária em comparação aos controles. Em contrapartida, o consumo hídrico foi menor nos grupos OB/SD e OB/TR quando comparados aos controles (Tabela 3).

Tabela 3: Peso corporal, tecido adiposo perigonadal, glicemia em jejum, consumo alimentar e hídrico dos camundongos fêmeas. Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), dieta obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR).

	SD	TR	OB/SD	OB/TR
Peso inicial (g)	19,7±0,3	19,8±0,2	21,3±0,4	21,4±0,4
Peso 8 sem. (g)	22,7±0,4	22,8±0,3	35,6±1,1*	34,4±1,2#
Peso final (g)	24,4±0,4	24,0±0,4	47,8±1,0*	46,0±1,4#
Ganho de peso (g)	4,6±0,2	3,9±0,3	26,7±0,8*	25,7±1,3#
TA perigonadal (mg/cm)	289,9±51,8	219,6±29,2	2535,0±134,6*	2243,8±147,1#
Ingesta calórica (kcal/dia)	11,7±0,2	11,0±0,5	30,4±2,2*	27,6±1,8#
Consumo hídrico (ml/dia)	20,9±0,5	20,0±0,7	12,4±0,5*	10,6±0,8#
Glicemia (mg/dL)	82,3±2,9	85,4±3,4	135,0±5,8*	125,6±6,9#

Valores apresentados como média ± erro padrão da média (EPM) e corrigidos pelo comprimento da tibia (cm). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: *p<0,05 comparado ao SD; #p<0,05 comparado ao TR. N = 22 a 27 animais.

5.3 Medida de pressão arterial sistólica e frequência cardíaca

A medida da pressão arterial sistólica (PAS) realizada no início do protocolo não apresentou diferenças significativas entre os grupos experimentais (Figura 7, painel A). Também não foram observadas diferenças na PAS após 8 semanas de protocolo experimental (Figura 7, painel B). No entanto, ao final do protocolo, após 16 semanas, o grupo OB/SD apresentou aumento na PAS, em comparação ao seu controle SD. O mesmo foi observado nos animais OB/TR, quando comparados ao controle TR (Figura 7, painel C). O treinamento físico aeróbio de intensidade moderada não produziu efeito na PAS, quando comparados os grupos OB/TR e OB/SD. Quanto à frequência cardíaca, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais (Tabela 4).

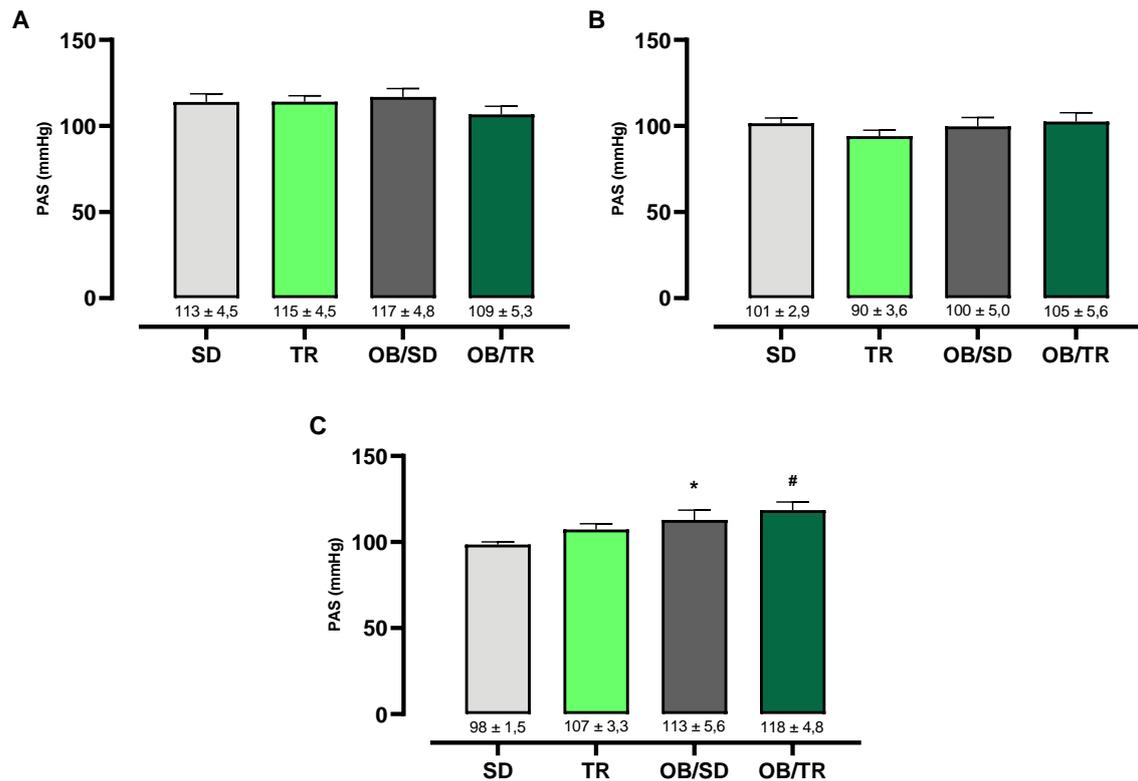


Figura 7. Pressão arterial sistólica inicial (mmHg, painel A), após 8 semanas de protocolo experimental (mmHg, painel B) e final, pós 16 semanas de protocolo, (mmHg, painel C). Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR). Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: * $p < 0,05$ comparado ao SD; # $p < 0,05$ comparado ao TR. N = 9 a 13 animais.

Tabela 4. Frequência cardíaca inicial (batimentos por minutos, bpm), após 8 semanas de protocolo experimental e final, após 16 semanas de protocolo. Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR).

Grupos	FC Inicial (bpm)	FC 8 sem. (bpm)	FC Final (bpm)
SD	603 \pm 16,5	596 \pm 9,0	615 \pm 10,6
TR	593 \pm 13,5	600 \pm 12,5	600 \pm 16,8
OB/SD	638 \pm 25,0	607 \pm 12,7	592 \pm 28,2
OB/TR	596 \pm 14,5	614 \pm 18,0	589 \pm 15,8

Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: N = 9 a 15 animais.

5.4 Parâmetros bioquímicos

Dentre os parâmetros bioquímicos séricos analisados, não houve diferença significativa entre os grupos quanto à dosagem de 17β -estradiol (Figura 8, painel A). Também não foi observado diferença nos níveis de adiponectina (Figura 8, painel C). Por outro lado, a concentração de leptina foi maior no grupo OB/SD e OB/TR

em comparação aos seus respectivos grupos controle, SD e TR. Além disso, o nível de leptina do grupo OB/TR foi significativamente menor em comparação ao grupo OB/SD, demonstrando um importante efeito do treinamento físico aeróbio de moderada intensidade (Figura 8, painel B).

A análise do TNF- α demonstra que, conforme esperado, a obesidade estabelece um perfil pró-inflamatório. Sendo assim, os níveis de TNF- α estão aumentados nos grupos OB/SD e OB/TR, em comparação aos grupos SD e TR. Cabe destacar que o exercício físico aeróbio foi capaz de reduzir o quadro inflamatório nos animais OB/TR, uma vez que o grupo OB/TR apresentou diminuição no nível de TNF- α quando comparado ao grupo OB/SD (Figura 8, painel D).

A produção das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), determinado pela concentração de malondialdeído (MDA), é um importante marcador de estresse oxidativo pela peroxidação lipídica (Figura 8, painel E). Esse ensaio demonstrou que a concentração de MDA foi maior no grupo OB/SD em comparação ao seu controle SD. Não houve diferença significativa entre o OB/TR e seu controle TR. O treinamento físico aeróbio promoveu uma diminuição na concentração de MDA no grupo OB/TR, quando comparado ao OB/SD. Isso sugere um possível efeito protetor do exercício físico aeróbio contra o estresse oxidativo.

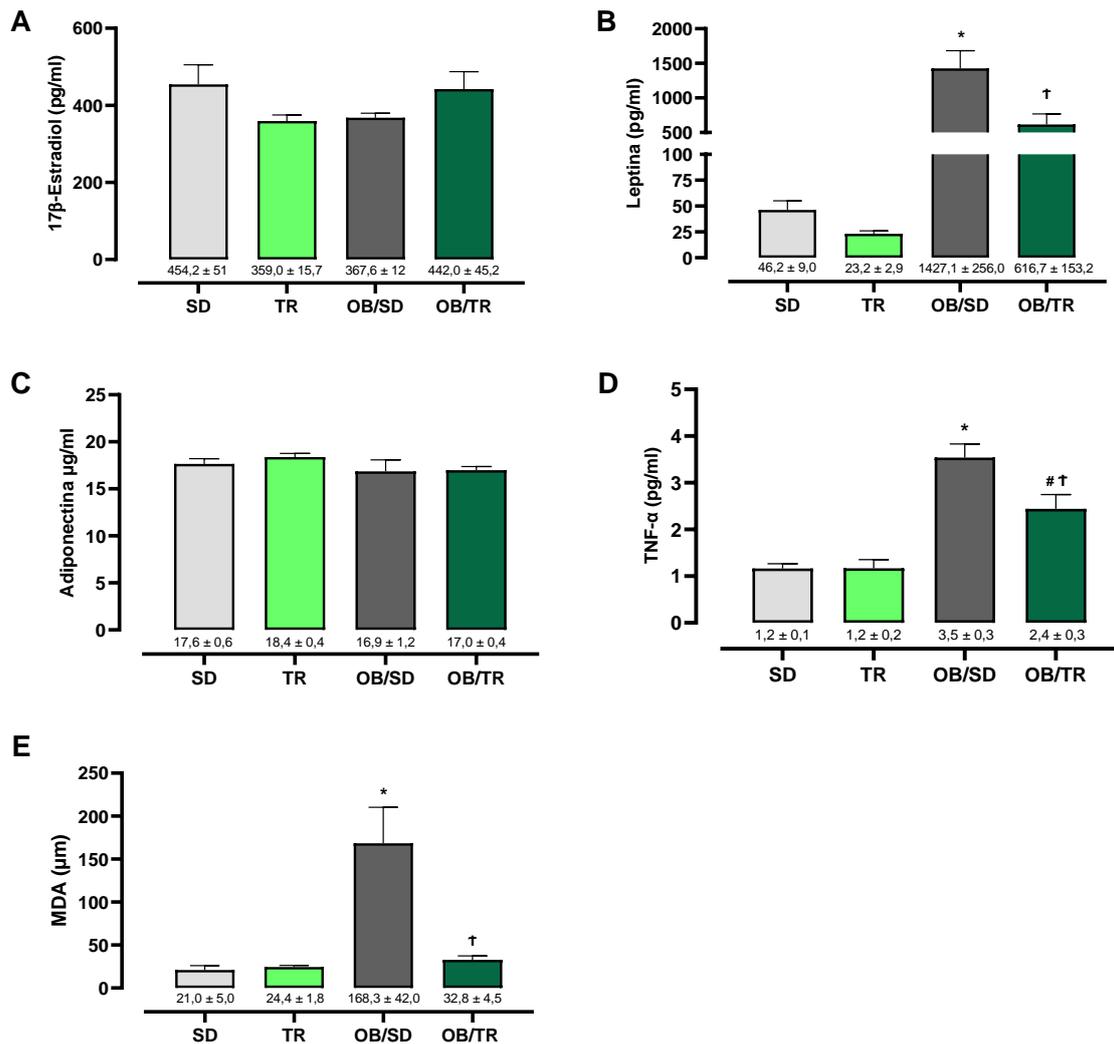


Figura 8. Níveis séricos de 17β-Estradiol (pg/mL, painel A), leptina (pg/mL, painel B), adiponectina (µg/mL, painel C), fator de necrose tumoral alfa (TNF-α, pg/mL, painel D) e malondialdeído (MDA, µm). Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR). Valores apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: *p<0,05 comparado ao SD; #p<0,05 comparado ao TR; †p<0,05 comparado ao OB/SD. N = 5 a 9 animais.

A análise de adiponectina no tPVAT revelou aumento significativo dessa adipocina no grupo OB/TR em comparação ao OB/SD e nenhuma diferença foi observada nos grupos SD e TR (Figura 9, painel A). Em relação a concentração de leptina no PVAT, foi observado redução no grupo OB/SD em comparação ao grupo SD (Figura 9, painel B). Quanto ao marcador de inflamação TNF-α, sua concentração foi menor no tPVAT dos animais do grupo OB/TR em comparação ao grupo TR (Figura 9, painel C).

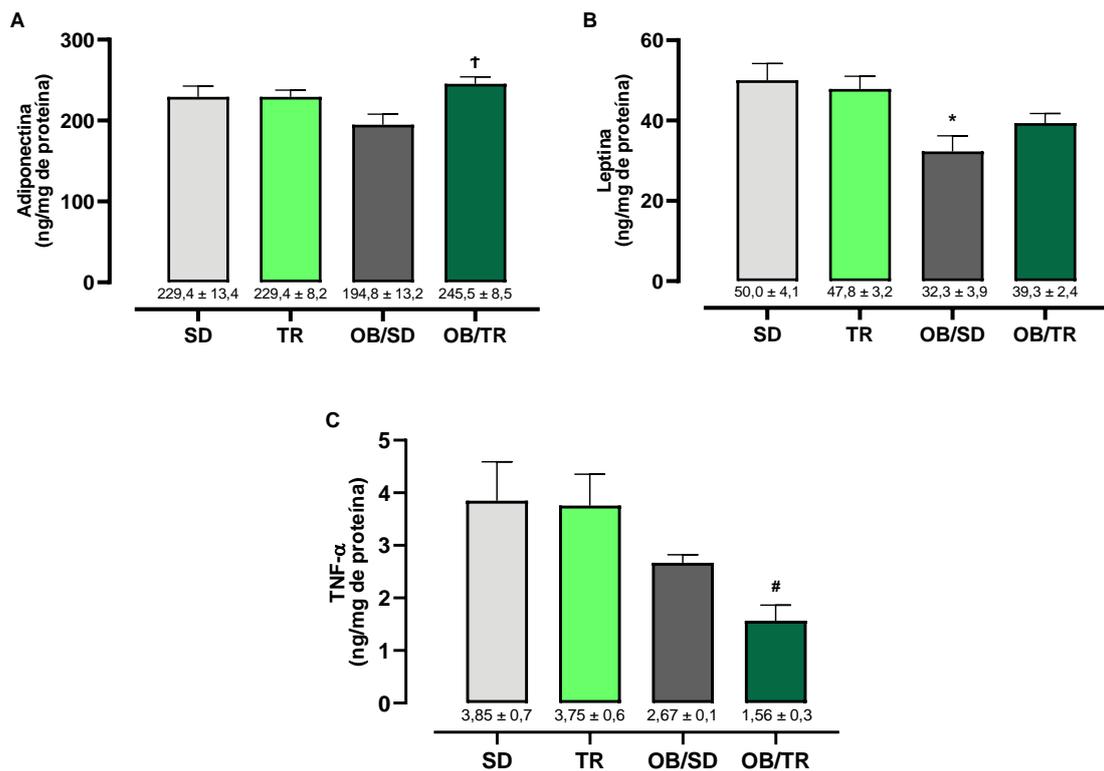


Figura 9. Concentração de adiponectina no PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas (ng/mg de proteína, painel A), de leptina (ng/mg de proteína, painel B) e de TNF- α (ng/mg de proteína, painel C). Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR). Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: * $p < 0,05$ comparado ao SD; # $p < 0,05$ comparado ao TR; † $p < 0,05$ comparado ao OB/SD. N = 3 a 6 animais.

5.5 Histologia

A quantificação da área lipídica demonstrou que o PVAT dos animais OB/SD apresenta maior conteúdo lipídico em comparação ao grupo SD. Não houve diferença significativa entre OB/TR e seu controle TR. O treinamento físico aeróbio foi eficiente ao promover redução no conteúdo lipídico do grupo OB/TR, em comparação ao grupo OB/SD. (Figura 10).

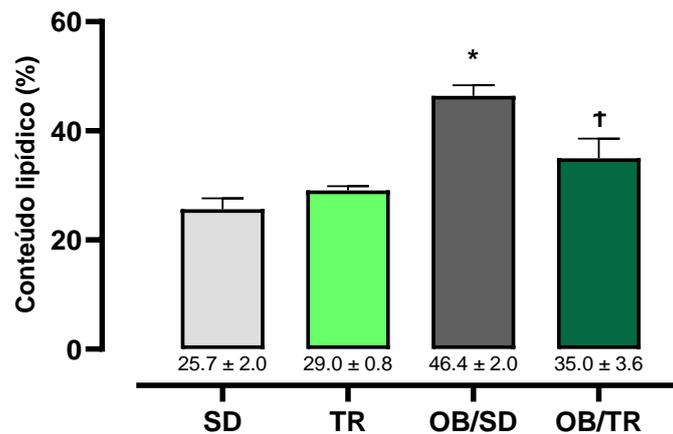


Figura 10. Quantificação de adipócitos brancos e marrons do tecido adiposo perivascular (PVAT) da aorta torácica de camundongos fêmeas. Grupos: controle sedentária (SD), controle treinada (TR), obesa sedentária (OB/SD) e obesa treinada (OB/TR). Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: * $p < 0,05$ comparado ao SD; † $p < 0,05$ comparado ao OB/SD. N= 4 a 5 animais.

A obesidade também induziu alterações na morfologia da aorta torácica e do PVAT (Figura 11). O grupo controle (SD) apresentou morfologia típica de tecido adiposo perivascular (PVAT) da aorta torácica, caracterizando-se por um fenótipo mais semelhante ao tecido adiposo marrom (TAM), isto é, células com diversas gotículas de lipídios e núcleo central de cromatina frouxa. Nesse grupo, os adipócitos, predominantemente marrons, estão organizados em arranjos elipsoides, formando massas compactas em associação com vasos sanguíneos, embora também se observe adipócitos brancos, em menor proporção, reconhecidos pela única gotícula de lipídio e seu núcleo deslocado periféricamente.

Em relação ao grupo treinado (TR), há predominância de adipócitos marrons, com núcleos arredondados e localizados centralmente, e aparentemente as gotículas de lipídios apresentam-se menores. Além disso, o TAM é marcado pela presença abundante de mitocôndrias e de vasos sanguíneos, conferindo-lhe uma coloração mais escura macroscopicamente.

Com a indução da obesidade, aliada ao sedentarismo (OB/SD), houve aumento no tamanho dos adipócitos, predominância de tecido adiposo branco (TAB) e coalescência das gotículas de lipídios dos adipócitos, cujos núcleos estão deslocados para a periferia. A forma nuclear é predominantemente achatada, entretanto são observados núcleos com formatos alterados, a depender de sua fase

de diferenciação celular. O exercício físico na condição de obesidade (OB/TR) foi capaz de alterar a morfologia do PVAT, apresentando um aparente predomínio de adipócitos marrons. Embora as gotículas lipídicas sejam maiores quando comparadas ao respectivo grupo controle (TR), os adipócitos apresentam gotículas lipídicas menores em comparação ao grupo OB/SD. Assim, o exercício aeróbio demonstrou capacidade de mitigar as alterações lipídicas decorrentes da obesidade.

A análise qualitativa a partir da coloração de hematoxilina e eosina, revelou diferenças significativas na arquitetura e estrutura do PVAT entre os grupos. O grupo TR se destaca pelo predomínio do TAM, enquanto o OB/SD evidenciou aumento volumétrico das gotículas lipídicas e predomínio do TAB. No OB/TR, observou-se menor quantidade de TAB em relação ao OB/SD e maior quantidade de TAM.

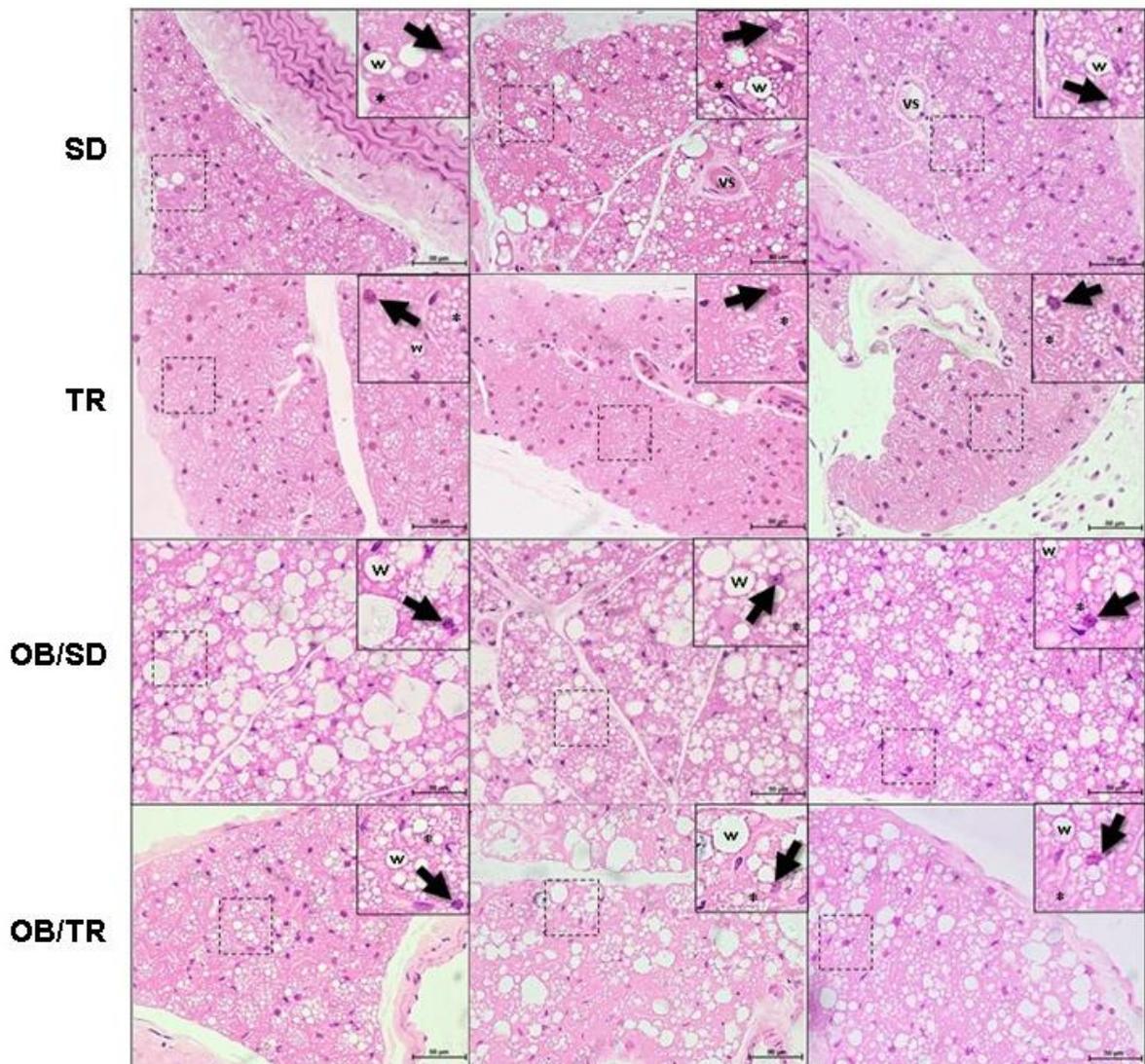


Figura 11. Fotomicrografias representativas do PVAT de segmentos da aorta torácica de camundongos fêmeas dos grupos sedentários (SD), treinados (TR), sedentários com dieta hiperlipídica (OB/SD) e

treinados com dieta hiperlipídica (OB/TR). As Imagens digitais foram obtidas usando a objetiva 40x/1,0. W indica gotícula de lipídio de um adipócito branco; asterisco indica tecido adiposo marrom, a seta preta demonstra o núcleo do tecido adiposo e VS indica vaso sanguíneo. N= 4 a 5 animais.

5.6 Citometria de fluxo

A partir do protocolo de isolamento padronizado no laboratório, as células do PVAT foram isoladas e submetidas à citometria de fluxo. Em primeira instância, as células são separadas de acordo com sua complexidade, seu tamanho e volume de partículas. Para a análise dos dados, são considerados *gates*, que consistem na seleção das populações de interesse, de modo que se avalia a frequência total e a frequência das subpopulações de cada tipo celular (Figura 12).

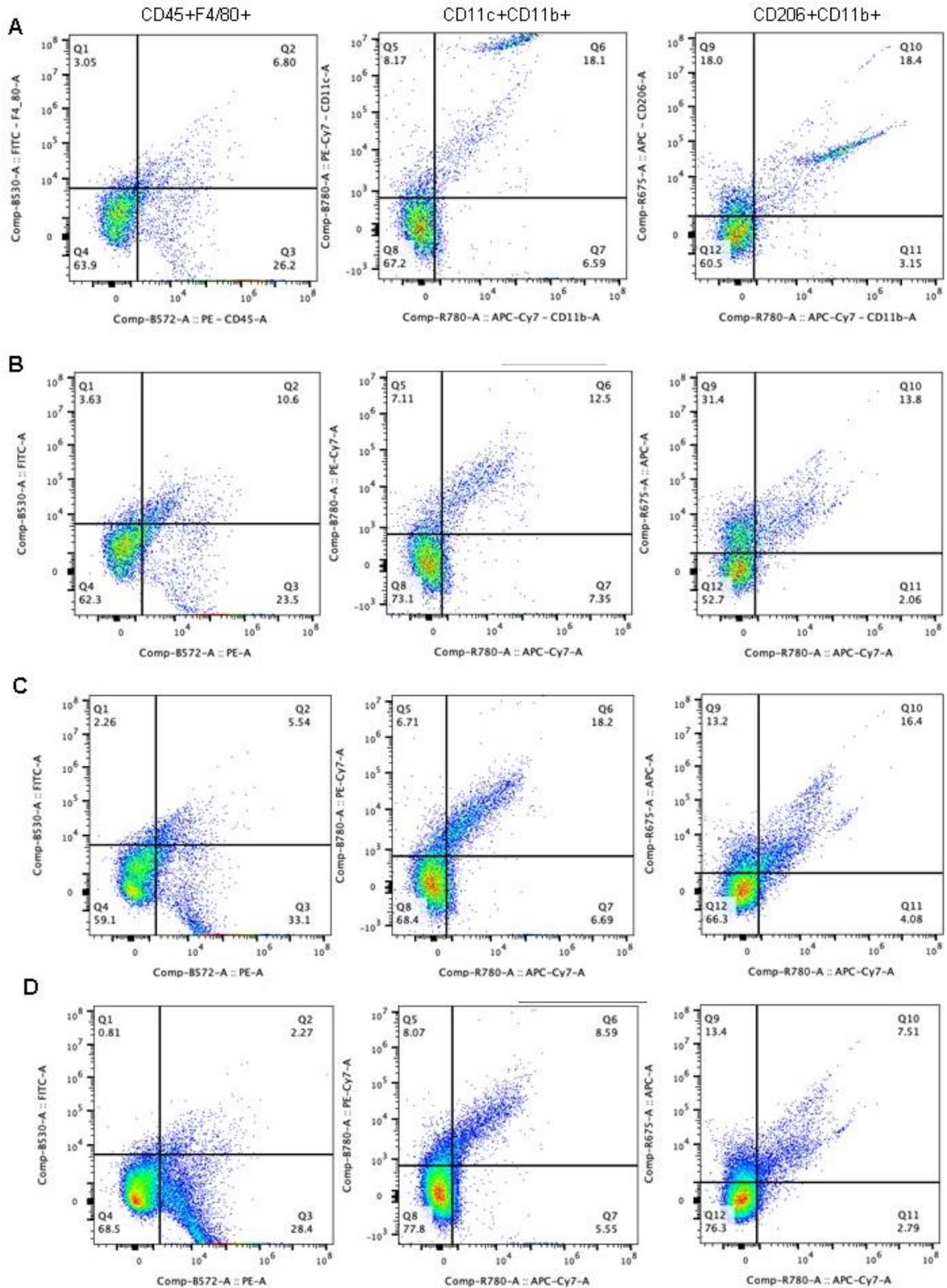


Figura 12. Caracterização de macrófagos isolados do PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas. As células foram primeiramente separadas em leucócitos CD45+, excluindo detritos celulares. A coloração de CD45 em conjunto com F4/80 é usada para delinear populações duplamente positivas que se presume serem macrófagos. Foi utilizada uma marcação adicional para demonstrar a porcentagem de CD11c+CD45+F4/80+ (macrófagos M1) e CD206+CD45+F4/80+ (macrófagos M2). Em (A) sedentárias; (B) treinadas; (C) obesas sedentárias; (D) obesas treinadas.

Na análise de macrófagos, eosinófilos, células dendríticas, linfócitos B e linfócitos T reguladores não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais (Figura 13). Embora exista uma tendência de que a razão de macrófagos M2/M1 seja menor no grupo OB/SD (0,87), indicando uma maior quantidade de macrófagos pró-inflamatórios (M1), em comparação ao grupo OB/TR (0,98). Houve diferença significativa na quantidade de linfócitos T natural killer (NK) (Figura 14, painel D), em que o grupo OB/SD apresentou maior porcentagem quando comparados ao seu controle SD. Além disso, o exercício (OB/TR) demonstrou reduzir os linfócitos NK 1.1+ na condição de obesidade, em comparação ao OB/SD.

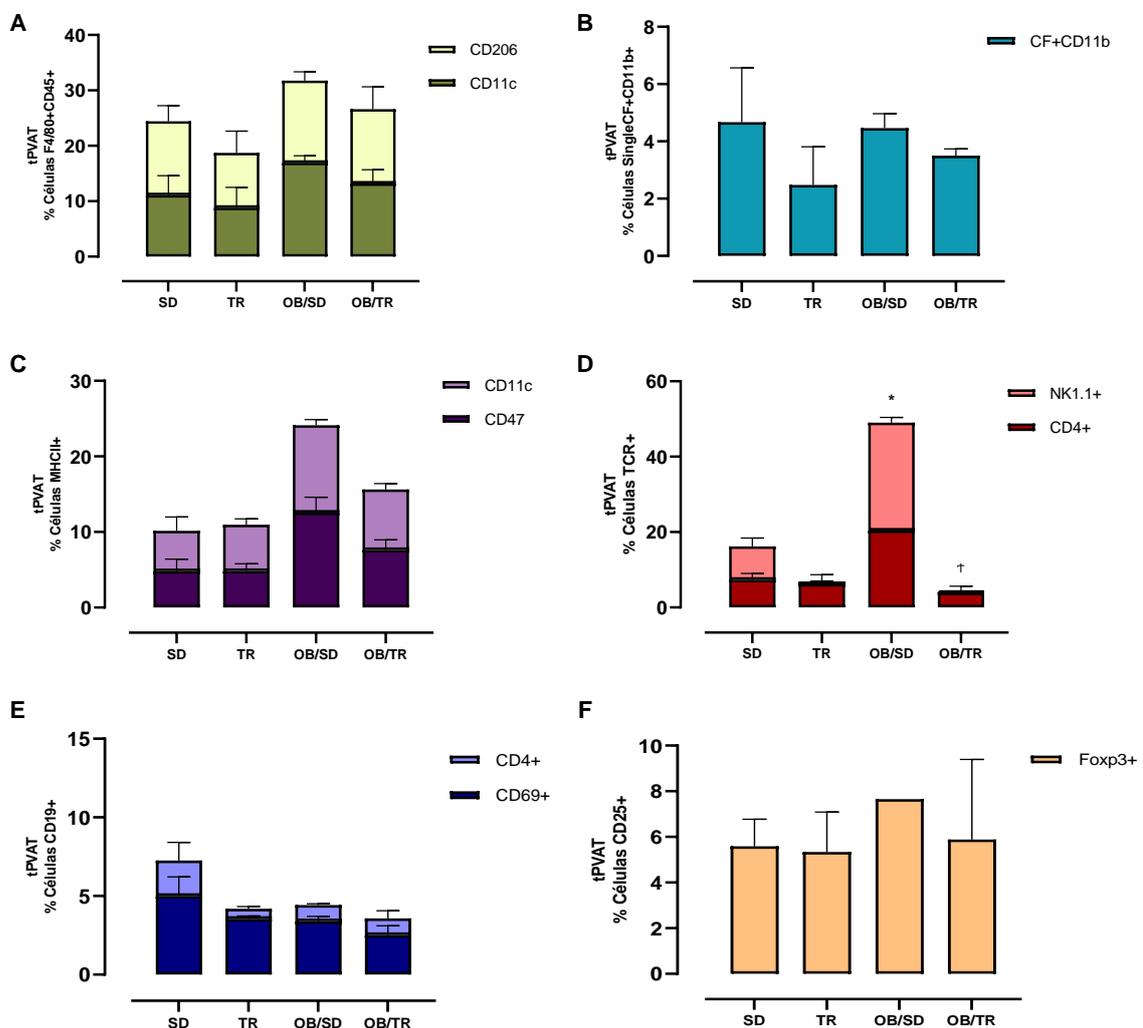


Figura 13. Porcentagem da população de células imunes no PVAT da aorta torácica de camundongos fêmeas. (A) macrófagos; (B) eosinófilos; (C) células dendríticas; (D) linfócitos T; (E) linfócitos B; (F) linfócitos T reguladores. Valores apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA duas vias, seguida de pós-teste de Bonferroni: * $p < 0,05$ comparado ao SD; † $p < 0,05$ comparado ao OB/SD. N= 3 a 4 animais.

6. DISCUSSÃO

A consideração das diferenças sexuais na investigação científica é essencial para garantir que o conhecimento produzido seja capaz de atender as especificidades de cada sexo. Assim, uma melhor compreensão da influência do sexo como modificador da obesidade é um passo importante para melhorar a prevenção e o tratamento (COOPER et al., 2021). Uma estratégia de terapia e prevenção da obesidade consiste no exercício regular, que exerce alterações fisiológicas benéficas no sistema cardiovascular e na morfologia do tecido adiposo (BOATENG; OLFERT; CHANTLER, 2021).

Nesse estudo demonstramos que camundongos fêmeas alimentadas com dieta hiperlipídica, para indução de obesidade, apresentaram aumento do peso corporal e do tecido adiposo perigonadal, além de alterações bioquímicas no soro, acompanhadas por mudanças morfológicas no tPVAT. Assim, os animais do grupo OB/SD apresentaram perfil pró-inflamatório, níveis aumentados de leptina, estresse oxidativo e adipócitos hipertrofiados. Nesse sentido, o exercício físico aeróbio de intensidade moderada apresentou efeitos benéficos nos parâmetros descritos no grupo OB/TR, mostrando-se uma importante ferramenta de intervenção não-farmacológica.

O modelo experimental de obesidade utilizando camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica já é bem estabelecido (BUCHAN et al., 2018; BASTU et al., 2018; Le GARF et al., 2019; SOUSA et al., 2019; VICTORIO et al., 2021). A indução da obesidade foi constatada pelo aumento no peso corporal e no peso do tecido adiposo perigonadal, além de aumento nos níveis de glicemia (SOUSA et al., 2019). Vale ressaltar que a ingesta calórica diária foi maior nos grupos obesos, OB/SD e OB/TR, enquanto que o consumo hídrico foi menor.

Há evidências de que o treinamento físico aeróbio está associado a diminuição do risco de doenças cardiovasculares e mortalidade cardiovascular (NYSTORIAK E BHATNAGAR, 2018). Na presença de obesidade, o exercício regular contribui para aliviar as consequências adversas da doença, incluindo perda de peso e gordura corporal, além de melhoria metabólica e antioxidante (BIGORNIA et al., 2010; LARSON-MEYER et al., 2010). Os resultados obtidos em nosso estudo não demonstram perda de peso corporal decorrente do treinamento físico no grupo OB/TR, corroborando com outros estudos em que o exercício regular preveniu complicações metabólicas associadas à obesidade, na ausência de perda de peso

(SAMAAN et al., 2014; HESPE et al., 2016; PETRIDOU et al., 2018). Além disso, tem sido sugerido que a funcionalidade e integridade do tecido adiposo são aspectos mais importantes para o risco cardiometabólico do que a sua quantidade total (BASTIEN et al., 2014; KOLIAKI et al., 2018, SOUSA et al., 2019).

As disfunções do PVAT induzidas pela obesidade estão associadas ao aumento da pressão arterial em modelos animais com obesidade induzida por dieta (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015), demonstrando a importância da função do PVAT nas doenças cardiovasculares. As adaptações vasculares funcionais em resposta ao treinamento físico aeróbio ocorrem tanto em indivíduos saudáveis, quanto em indivíduos com doenças crônicas. Estímulos hemodinâmicos repetidos durante o treinamento regular podem resultar em melhor regulação da pressão arterial nas artérias condutoras, bem como nos pequenos vasos (KÖNIGSTEIN et al., 2023).

Sabe-se que a obesidade exerce maior influência na pressão arterial de mulheres, assim, a hipertensão induzida pela obesidade tem vias específicas dependentes do sexo (SHARABI et al., 2004; FUJITA; HATA, 2014) e nossos dados demonstraram aumento da pressão arterial sistólica (PAS) no grupo OB/SD. Um estudo conduzido em camundongos machos e fêmeas, sugere que os componentes do SRAA do tecido adiposo, incluindo a ECA2, podem contribuir para a suscetibilidade diferencial à hipertensão induzida pela obesidade entre camundongos machos e fêmeas (WANG et al., 2017).

Outro estudo demonstrou que, em camundongos machos hipertensos, o exercício físico aeróbio moderado atenuou a pressão arterial e melhorou a função cardíaca (YUAN et al., 2021). Entretanto, outro estudo sugere que o treinamento aeróbio de moderada intensidade foi prejudicial em camundongos machos obesos, enquanto que em fêmeas obesas o efeito do exercício promoveu melhoras na morfologia cardíaca (TOTH et al., 2022). Em nosso estudo, o treino aeróbio moderado não apresentou efeito na PAS no grupo OB/TR.

Ainda considerando as diferenças sexuais, tanto o estrogênio quanto a testosterona modulam a função das células endoteliais, levando à ativação da eNOS e redução da enzima pró-oxidante NADPH oxidase. Além disso, níveis reduzidos de hormônios gonadais feminino estão associados a um fenótipo pró-inflamatório e pró-oxidante, demonstrando a relevância dos estrogênios na função do PVAT (WANG et al., 2014; VICTORIO et al., 2020). O 17 β -estradiol é um esteroide sexual feminino com funções imunológicas, cardiovasculares e neuronais, bem como participa da

regulação do metabolismo da pele, dos ossos e dos lipídios (CHOUDHRY; CHAUDRY, 2008).

Ao avaliarmos a concentração de 17β -estradiol, não encontramos diferenças entre os grupos. Entretanto, estudos mostraram que camundongos fêmeas knockout para aromatase (modelo pós-menopausa) e ratas ovariectomizadas (OVX) apresentam aumento de peso corporal e maior área de tPVAT (MISSO et al., 2003; XU et al., 2012). As alterações morfológicas observadas no PVAT de ratas OVX foram revertidas quando tratadas com 17β -estradiol (XU et al., 2012). Assim, a disfunção do tPVAT em decorrência de níveis prejudicados de hormônios ovarianos é um mecanismo para complicações vasculares associadas à pós-menopausa (XU et al., 2012). Na obesidade, apesar do aumento nos níveis de estrogênio, seu efeito vasoprotetor é perdido (COOPER et al., 2021).

A leptina é um hormônio lipostático sintetizado principalmente pelo tecido adiposo branco e, em menor extensão, pelo tecido adiposo marrom (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012). Essa adipocina está envolvida na regulação do apetite, gasto energético, inflamação e respostas imunológicas (XIA et al., 2016). Também participa na regulação do tônus vascular, embora os mecanismos ainda não sejam totalmente elucidados. Esses efeitos vasculares resultam: I) da vasoconstrição indireta por meio da estimulação da atividade simpática no nível hipotalâmico; e II) da vasodilatação direta, que depende de um endotélio intacto e funcional, por meio de mecanismos que variam entre diferentes leitos vasculares e espécies (GÁLVEZ-PRIETO ET AL., 2012).

Sabe-se que a síntese de leptina é proporcional ao tamanho dos adipócitos (STANEK, et al., 2021), assim, conforme observado em nossos dados, os animais do grupo OB/SD apresentam maiores concentrações de leptina. O aumento da sua concentração resulta em maior estimulação do sistema nervoso simpático (SNS), de fato a leptina pode ser um dos impulsionadores da hiperatividade do SNS na obesidade (XIA et al., 2016). Vale ressaltar que os mecanismos pelos quais a leptina exerce seu efeito vasodilatador difere de acordo com o leito vascular, sendo na aorta o relaxamento dependente do endotélio, envolvendo a liberação de NO (STANEK, et al., 2021). Além disso, corroborando com os dados de PAS e leptina obtidos em nosso estudo, um trabalho demonstrou que a leptina induz hipertensão e disfunção endotelial em camundongos fêmeas obesas (HUBY; OTVOS; BELIN DE CHANTEMÈLE, 2016).

Conforme demonstrado nesse estudo, um dos efeitos do exercício aeróbio de intensidade moderada consistiu na diminuição dos níveis de leptina no grupo

OB/TR. Outros trabalhos, inclusive em nosso grupo de pesquisa, demonstraram em camundongos e ratos machos que o treinamento aeróbio moderado é capaz de reduzir o quadro de hiperleptinemia em animais obesos (SPONTON et al., 2017; SOUSA et al., 2021; WANG et al., 2023). As reduções nos níveis de leptina induzidas pelo treinamento físico podem ser atribuídas às alterações no balanço energético, melhorias na sensibilidade à insulina e alterações no metabolismo lipídico (KRAEMER; CHU; CASTRACANE et al., 2002; MURAWSKA-CIAŁOWICZ et al., 2022).

A adiponectina, produzida exclusivamente pelos adipócitos, tem efeito protetor contra diabetes e aterosclerose (SKURK et al., 2007). A presença de receptores β 3-adrenérgicos nos adipócitos está associada à estimulação autonômica e a liberação de adiponectina. Nesse mecanismo, a norepinefrina produz um efeito anticontrátil induzido pela adiponectina, que é dependente do NO (WITHERS et al., 2013). Efeitos adicionais desse hormônio consistem na regulação dos níveis de glicose no sangue por meio do aumento da captação de glicose pelos músculos e melhora da sensibilidade à insulina; aumento da concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuição de triglicerídeos (STANEK, et al., 2021).

O perfil e o papel da adiponectina derivada do PVAT na obesidade ainda não é bem esclarecido. São encontrados na literatura estudos que demonstram tanto aumento nos níveis de adiponectina em camundongos machos obesos (FÉSUS et al., 2007), quanto redução. A diminuição dos níveis dessa adipocina foi observada no PVAT de pequenas artérias da gordura glútea subcutânea de indivíduos obesos (AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2013) e em amostras de tPVAT de diferentes modelos de obesidade em animais machos, como em camundongos ob/ob (AGABITI ROSEI et al., 2023), em camundongos db/db (MEIJER et al., 2013) e em camundongos obesos induzidos por dieta (CHATTERJEE et al., 2009; SOUSA et al., 2021; WANG et al., 2023).

Nossos dados, em camundongos fêmeas, não apontaram para diferenças significativas nos níveis de adiponectina circulante entre os grupos, assim como observado em outros trabalhos com animais machos realizados em nosso grupo de pesquisa (SPONTON et al., 2017; SOUSA et al., 2019). Entretanto, observamos aumento na concentração de adiponectina no tPVAT de animais OB/TR. Em estudo prévio com animais machos, o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada induziu aumento do receptor de adiponectina (AdipoR1) nos animais obesos treinados

(SOUSA et al., 2021). Outro trabalho, também em animais machos, mostrou que o exercício aeróbio moderado, a longo prazo, restaurou os níveis de adiponectina em animais obesos (WANG et al., 2023).

A disfunção do PVAT induzida pela obesidade causa inflamação no microambiente, promovendo a infiltração de células imunes, como monócitos, macrófagos e células dendríticas (CHAK KWONG CHENG et al., 2023). Os macrófagos do tecido adiposo são classificados de acordo com as citocinas secretadas e seus marcadores celulares: M1 representa um perfil inflamatório e M2 possui características imunossupressoras (MARTINEZ; GORDON, 2014). A subclasse M1 secreta citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 e desempenha um papel significativo na indução do estado inflamatório (STANEK, et al., 2021).

Um dos mecanismos implicados na relação entre inflamação e obesidade é a hipóxia. A hipertrofia dos adipócitos resulta em perfusão inadequada com consequente inflamação local e hipóxia, mediada principalmente pelo Fator 1-alfa induzível por hipóxia (HIF-1 α). Esse fator se apresenta elevado no tecido adiposo de indivíduos obesos e é reduzido após a perda de peso. Além disso, o HIF-1 α pode aumentar o nível de citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-6, e reduzir a concentração de adiponectina (AGABITI-ROSE et al., 2023).

Nossos dados demonstraram que os níveis sistêmicos de TNF- α aumentaram no grupo OB/SD. Um perfil pró-inflamatório também foi observado no tPVAT de camundongos machos alimentados com dieta hiperlipídica (KETONEN et al., 2010; OMAR et al., 2014; XIA et al.2016) e inclusive no soro de ratos machos obesos (SPONTON et al., 2017; WANG et al., 2023). Outro estudo observou em vasos arteriais de ratos machos obesos, que a indução experimental de hipóxia por 2,5 horas seguida por aplicação de TNF- α e IL-6 pode causar inflamação e perda da função vasodilatadora do tPVAT (GREENSTEIN et al., 2009). Além disso, a pré-incubação com o antagonista de TNF- α pode restaurar a função normal do tPVAT de ratos machos obesos (AGABITI-ROSE et al., 2024).

O PVAT contém vários tipos de células imunes inatas e adaptativas, conforme observado em nossos dados de citometria de fluxo. Os resultados mostram que as populações de células imunes mais presentes no PVAT são os macrófagos e as células T. Inclusive, um trabalho demonstrou que justamente essas células imunes foram as principais responsáveis pelas diferenças entre os sexos no desenvolvimento e na progressão da hipertensão induzida por dieta hiperlipídica (ALMABROUK et al.,

2018; KUMAR et al., 2021). Os nossos dados demonstraram diferenças significativas apenas na porcentagem de células T (TCR+), cujo exercício físico aeróbio na obesidade levou à sua redução.

Por outro lado, estudos sugerem que camundongos machos alimentados com dieta hiperlipídica apresentam aumento de células dendríticas no tecido adiposo visceral (BERTOLA et al., 2012; RACIC et al., 2012). Outro estudo, em camundongos machos deficientes em eosinófilos, mostrou que mediante dieta hiperlipídica apresentaram acentuada resistência a insulina (WU et al., 2011). Já as células Tregs do tecido adiposo visceral são marcadamente reduzidas em camundongos e humanos obesos, o que promove a inflamação (DEIULIIS et al., 2011; GYLLENHAMMER et al., 2016). As células B estão entre as primeiras células imunológicas a se infiltrarem no tecido adiposo após o consumo de uma dieta hiperlipídica consistente com um aumento da resistência a insulina e inflamação (DEFURIA et al., 2013; YING et al., 2017).

As funções endócrinas são moduladas por células imunológicas residentes e infiltradas. De fato, o tecido adiposo abriga uma variedade de células imunológicas, que podem exercer papéis pró-inflamatórios ou anti-inflamatórios, dependendo da estimulação do microambiente e da reconfiguração metabólica. O PVAT na obesidade caracteriza-se por um estado de inflamação crônica devido ao aumento da hipertrofia, hiperplasia e apoptose dos adipócitos, acompanhado por alterações na produção de adipocinas e mediadores inflamatórios (LUMENG et al., 2018; ALZAIM et al., 2020).

O exercício físico possui efeitos anti-inflamatórios e é capaz de minimizar a infiltração de células imunes no PVAT. Além disso, ao diminuir o tamanho dos adipócitos, reduz a secreção de citocinas como TNF- α e IL-6 e aumenta a biodisponibilidade de adiponectina e NO (FRITZEN et al., 2015; STANEK et al., 2021). Nossos resultados também mostraram que o treino aeróbio de intensidade moderada diminuiu os níveis de TNF- α no grupo OB/TR. Resultados semelhantes foram vistos em outros trabalhos com ratos e camundongos machos também expostos ao treinamento aeróbio de moderada intensidade (SPONTON et al., 2017; SOUSA et al., 2019; WANG et al., 2023). Um estudo realizado em camundongos machos obesos demonstrou que o exercício restaurou a função vasodilatadora do mPVAT, aumentando a expressão dos receptores β 3-adrenérgicos e do OCT3, e reduzindo a expressão do TNF- α (SAXTON et al., 2021).

Conseqüentemente, a inflamação do PVAT na obesidade exacerba a geração de EROs, principalmente O_2^- e H_2O_2 . Assim, a deleção do receptor de TNF-

α no PVAT de camundongos obesos reduz a produção de EROs e a vasoconstrição (COSTA et al., 2017). No PVAT as principais fontes de EROs são as mitocôndrias, a família NOX da NADPH oxidase e o desacoplamento da eNOS (MAN et al., 2023). Os superóxidos facilitam a liberação de cálcio intracelular do retículo sarcoplasmático induzida pelo IP₃, processo em que a inibição da via pelo cGMP nas células do músculo liso vascular está diminuída (KORSAGER et al., 2016).

Os estados pró-inflamatórios e pró-oxidativos no PVAT alteram significativamente a função anticontrátil do PVAT em condições de obesidade (DE MELLO et al., 2018). Essa disfunção resulta no desequilíbrio dos fatores vasoativos derivados do PVAT, por exemplo, na obesidade, o H₂O₂ pode atuar como um fator contrátil (MAN et al., 2023). Nossos dados demonstraram por meio do ensaio de TBARS, que no grupo OB/SD há aumento da concentração de MDA, produto final da peroxidação lipídica.

Outros estudos também mostram que a disfunção do PVAT induzida pela obesidade está relacionada ao aumento da geração de EROs em camundongos machos obesos (KETONEN et al., 2010; GIL-ORTEGA et al., 2014; XIA et al., 2016; DA COSTA et al., 2017). Um trabalho com camundongos fêmeas obesas mostrou que a deleção específica do receptor mineralocorticóide do canal de sódio epitelial nas células endoteliais (EnNaC) diminui o estresse do retículo endoplasmático induzido pela aldosterona e o estresse oxidativo mediado por NOX2, bem como respostas pró-inflamatórias (SOWERS et al., 2019).

O exercício aeróbio de intensidade moderada melhora as defesas antioxidantes do organismo e, portanto, é eficaz na redução de EROs e na prevenção de doenças associadas a EROs, incluindo hipertensão (ROQUE et al., 2013; MAN et al., 2023). Um trabalho com camundongos machos diabéticos demonstrou que o treino aeróbio moderado melhorou a fosforilação da eNOS e aumentou a expressão de enzimas antioxidantes (LEE; PARK; ZHANG, 2011). Em ratos hipertensos, o treinamento de corrida moderada em esteira normalizou a produção de superóxidos (ROQUE et al., 2013). Em nosso estudo, os animais do grupo OB/TR apresentaram redução no marcador de estresse oxidativo.

Morfologicamente o tecido adiposo pode ser classificado em TAB, TAM e, mais recentemente, bege. Nesse sentido, a cor está associada a população predominante de adipócitos e a quantidade de mitocôndrias contendo ferro. Os adipócitos brancos do PVAT apresentam grandes gotículas lipídicas uniloculares,

menos mitocôndrias e pequenos volumes citoplasmáticos; enquanto que adipócitos marrons são caracterizados por gotículas lipídicas multiloculares e alta densidade de mitocôndrias (LI et al., 2022).

O fenótipo do PVAT é dependente de seu leito vascular, sendo que o tPVAT apresenta características semelhantes ao TAM, cujos adipócitos contêm múltiplas gotículas lipídicas, alto conteúdo mitocondrial e alta expressão de UCP-1 (VICTORIO et al., 2020). Em ambos os sexos, o tPVAT apresenta extensa marcação de UCP-1 com áreas de adipócitos brancos localizados na periferia, enquanto o mPVAT exibe predominantemente adipócitos brancos (CONTREAS et al., 2016; VICTORIO et al., 2020).

A mudança fenotípica dos adipócitos do tPVAT, por vias de sinalização específicas, é evidente tanto no branqueamento, quanto no escurecimento do tecido. Conforme observado em nossos dados, a obesidade resulta em aumento do conteúdo lipídico do PVAT e predomínio de adipócitos brancos no grupo OB/SD. Estudo prévio observou resultados semelhantes de conteúdo lipídico em ratos machos (LIAO et al., 2020). Outros trabalhos também já demonstraram, em camundongos machos obesos, o predomínio de adipócitos brancos no tPVAT, com uma aparência principalmente unilocular e lipídios maiores (GALVEZ-PRIETO et al., 2012; SACKS E SYMONDS, 2013). No entanto, um trabalho com ratos mostrou que os adipócitos brancos do tPVAT e do mPVAT de machos exibem maior tamanho e número em comparação às fêmeas (CONTREAS et al., 2016).

O exercício físico aeróbio, além dos efeitos já mencionados, também promove alterações benéficas na morfologia do PVAT. Os dados de morfologia obtidos em nosso estudo sugerem predomínio de adipócitos menores, com características fenotípicas marrons no grupo OB/TR. Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos com ratos machos, em que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada, reverteu o aumento e a coalescência de gotículas lipídicas no tPVAT e no mPVAT de animais obesos (ARAÚJO et al., 2017; LIAO et al., 2020; WANG et al., 2023).

A prática de exercício físico, especialmente o exercício aeróbio de intensidade moderada, realizado de forma contínua, oferece benefícios significativos tanto na prevenção quanto no tratamento das doenças cardiovasculares e endócrino-metabólicas (BOA et al., 2017; FIUZA-LUCES et al., 2018). Nesse sentido, intervenções terapêuticas ou preventivas devem considerar as diferenças sexuais,

que influenciam diretamente a epidemiologia, fisiopatologia e o desfecho clínico de muitas doenças, particularmente as não-transmissíveis, como as doenças cardiovasculares.

7. CONCLUSÃO

Conforme demonstrado nesse trabalho, a obesidade induzida pela alimentação hiperlipídica, em camundongos fêmeas, resultou em alterações morfológicas no tPVAT, associadas ao aumento da resposta inflamatória sistêmica e à peroxidação lipídica. O treinamento físico aeróbio de intensidade moderada atenuou as alterações morfológicas causadas pela obesidade e reduziu a inflamação circulante e o estresse oxidativo, mesmo sem mudanças no peso corporal e na glicemia. A análise da população de células imunes do tPVAT revelou efeito significativo do exercício físico aeróbio na redução de linfócitos T NK (Figura 14).

Tendo em vista o aumento da prevalência da obesidade, principalmente nas mulheres, é necessário que existam intervenções terapêuticas ou preventivas diante dessa população. Nesse contexto, o treinamento físico aeróbio demonstrou efeitos benéficos teciduais e sistêmicos importantes para a manutenção da homeostasia cardiovascular.

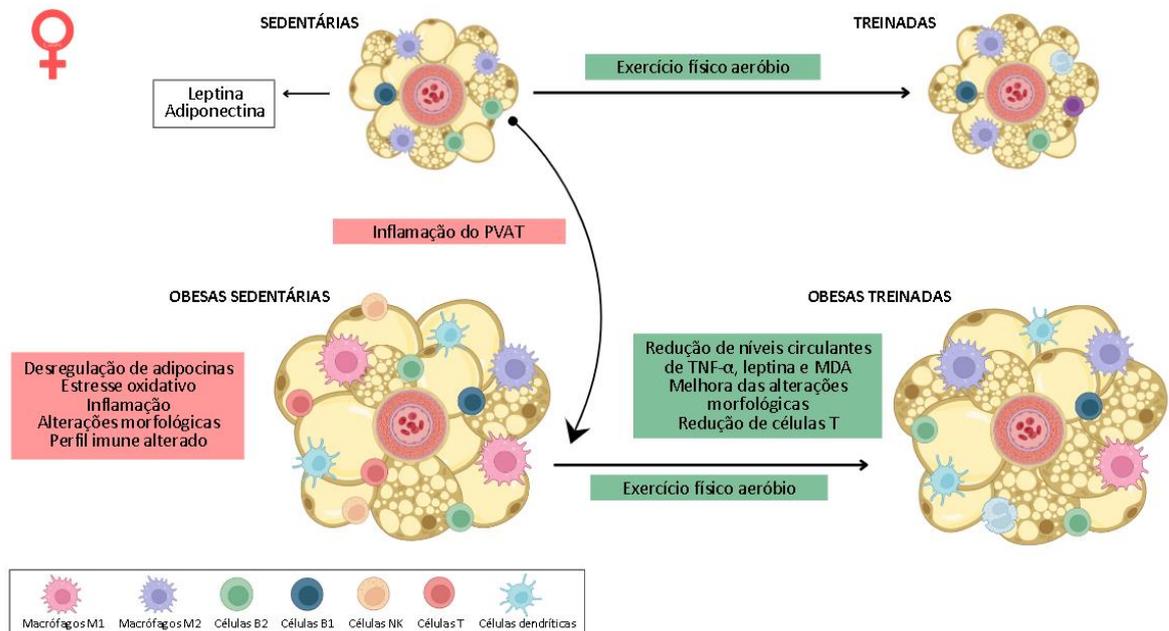


Figura 14. Súmario dos principais resultados. A obesidade, induzida por dieta hiperlipídica, promoveu alterações morfológicas como hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos, com maior frequência de adipócitos brancos. Apresentando um perfil pró-inflamatório e de estresse oxidativo. O treinamento físico aeróbio foi capaz de reduzir níveis circulantes de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), leptina e malondialdeído (MDA), além da redução de adiponectina no tPVAT. A morfologia dos adipócitos apresentou maior frequência de adipócitos marrons e menor conteúdo lipídico. A população de células imunes também apresentou importantes alterações.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGABITI ROSEI, C et al. Influence of Perivascular Adipose Tissue on Microcirculation: A Link Between Hypertension and Obesity. **Hypertension**, 8 nov. 2023.
2. AGHAMOHAMMADZADEH, R. et al. Effects of Bariatric Surgery on Human Small Artery Function. **J Am Coll Cardiol**. v. 62, n. 2, p. 128–135, 9 jul. 2013.
3. AGHAMOHAMMADZADEH, R et al. Effects of Obesity on Perivascular Adipose Tissue Vasorelaxant Function: Nitric Oxide, Inflammation and Elevated Systemic Blood Pressure. **Journal of Vascular Research**, v. 52, n. 5, p. 299–305, 2015.
4. AHIMA, R. S. Connecting obesity, aging and diabetes. **Nature Medicine**, v. 15, n. 9, p. 996–997, set. 2009.
5. AHMAD, A. A.; RANDALL, M. D.; ROBERTS, R. E. Sex differences in the role of phospholipase A2-dependent arachidonic acid pathway in the perivascular adipose tissue function in pigs. *The Journal of Physiology*, v. 595, n. 21, p. 6623–6634, 24 set. 2017.
6. AL-JARALLAH, A.; ORIOWO, M. A. Loss of Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue on Pregnant Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 67, n. 2, p. 145–151, fev. 2016.
7. ALMABROUK, T. A. M. et al. High Fat Diet Attenuates the Anticontractile Activity of Aortic PVAT via a Mechanism Involving AMPK and Reduced Adiponectin Secretion. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 9 fev. 2018.
8. ÁLVAREZ, P. et al. Cellular mechanisms against ischemia reperfusion injury induced by the use of anesthetic pharmacological agents. **Chemico-Biological Interactions**, v. 218, p. 89–98, jul. 2014.
9. ALZAIM, I. et al. Adipose Tissue Immunomodulation: A Novel Therapeutic Approach in Cardiovascular and Metabolic Diseases. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 7, 17 nov. 2020.
10. ANGELIS, K. D. et al. The importance of animal studies in Exercise Science. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 23, n. spe, 2017.
11. ANTONOPOULOS, A. S. et al. Adiponectin as a Link Between Type 2 Diabetes and Vascular NADPH Oxidase Activity in the Human Arterial Wall: The Regulatory Role of Perivascular Adipose Tissue. **Diabetes**, v. 64, n. 6, p. 2207–2219, 31 dez. 2014.

12. ARAÚJO, H.N.; VICTORIO, J.A.; VALGAS da SILVA, C.P. et al. Anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in thoracic aorta from rats fed a high-fat diet: role of aerobic exercise training. **ClinExpPharmacol Physiol**. v.45, p. 293-302, 2018.
13. BASTIEN, M. et al. Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity to Cardiovascular Disease. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 56, n. 4, p. 369–81, 2014.
14. BASTU, E. et al. Effects of Irisin and Exercise on Metabolic Parameters and Reproductive Hormone Levels in High-Fat Diet-Induced Obese Female Mice. **Reproductive Sciences**, v. 25, n. 2, p. 281–291, fev. 2018.
15. BENJAMIN, E. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2017 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 135, n. 10, 7 mar. 2017.
16. BENNETT, H. S. et al. Science and Art in Preparing Tissues Embedded in Plastic for Light Microscopy, with Special Reference to Glycol Methacrylate, Glass Knives and Simple Stains. **Stain Technology**, v. 51, n. 2, p. 71–97, jan. 1976.
17. BERTOLA, A. et al. Identification of Adipose Tissue Dendritic Cells Correlated With Obesity-Associated Insulin-Resistance and Inducing Th17 Responses in Mice and Patients. **Diabetes**, v. 61, n. 9, p. 2238–2247, 17 maio 2012.
18. BIGORNIA, S. J. et al. Long-term Successful Weight Loss Improves Vascular Endothelial Function in Severely Obese Individuals. **Obesity**, v. 18, n. 4, p. 754–759, abr. 2010.
19. BOA, B. C. S. et al. Exercise effects on perivascular adipose tissue: endocrine and paracrine determinants of vascular function. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3466–3481, 16 mar. 2017.
20. BOATENG, S. Y.; OLFERT, I. M.; CHANTLER, P. D. Role of Perivascular Adipose Tissue and Exercise on Arterial Function with Obesity. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, 7 abr. 2021.
21. BUCHAN, L. et al. High-fat, high-sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, 22 out. 2018.
22. CALVERT, J. W. et al. Exercise Protects Against Myocardial Ischemia–Reperfusion Injury via Stimulation of β_3 -Adrenergic Receptors and Increased Nitric Oxide Signaling: Role of Nitrite and Nitrosothiols. **Circulation Research**, v. 108, n. 12, p. 1448–1458, 10 jun. 2011.

23. CARAPETO, P. V.; AGUAYO-MAZZUCATO, C. Effects of exercise on cellular and tissue aging. **Aging**, v. 13, n. 10, 13 maio 2021.
24. CASPERSEN CJ, POWELL KE, CHRISTENSON GM. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep** 1985;100: 126–31.
25. CASTELUCCI et al. Recruitment of monocytes and mature macrophages in mouse pubic symphysis relaxation during pregnancy and postpartum recovery. **Biology of Reproduction**, 14 jun. 2019.
26. CHAK KWONG CHENG et al. Perivascular adipose tissue: Fine-tuner of vascular redox status and inflammation. **Redox Biology**, v. 62, p. 102683–102683, 1 jun. 2023.
27. CHAN, C. T. et al. Reversal of Vascular Macrophage Accumulation and Hypertension by a CCR2 Antagonist in Deoxycorticosterone/Salt-Treated Mice. **Hypertension**, v. 60, n. 5, p. 1207–1212, nov. 2012.
28. CHANG, L. et al. Loss of Perivascular Adipose Tissue on Peroxisome Proliferator–Activated Receptor- γ Deletion in Smooth Muscle Cells Impairs Intravascular Thermoregulation and Enhances Atherosclerosis. **Circulation**, v. 126, n. 9, p. 1067–1078, 28 ago. 2012.
29. CHATTERJEE, K.T et al. Proinflammatory Phenotype of Perivascular Adipocytes. v. 104, n. 4, p. 541–549, 27 fev. 2009.
30. CHOUDHRY, M. A.; CHAUDRY, I. H. 17 β -Estradiol: a novel hormone for improving immune and cardiovascular responses following trauma-hemorrhage. v. 83, n. 3, p. 518–522, 1 mar. 2008.
31. CINTI, S. Between brown and white: Novel aspects of adipocyte differentiation. **Annals of Medicine**, v. 43, n. 2, p. 104–115, 24 jan. 2011.
32. CIOLAC, E.G.; GUIMARÃES, G.V. Resistance Training in Type 2 Diabetic Patients Improves Uric Acid levels. **RevBrasMed Esporte**, v.10, p.319-324, 2004.
33. CONLEY, S. M. et al. Human Obesity Induces Dysfunction and Early Senescence in Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 26 mar. 2020.
34. CONTRERAS, G.A. et al. The distribution and adipogenic potential of perivascular adipose tissue adipocyte progenitors is dependente on sexual dimorphism and vessel location. **Physiological Reports**. v.4, n.19, 2016.

35. COOPER, A et al. Sex/Gender Differences in Obesity Prevalence, Comorbidities, and Treatment. **Curr Obes Rep** 10, 458–466 (2021).
36. COSTA-SANTOS, Nicolas da et al. Protocolos de treinamento físico em Modelos Experimentais usados na pesquisa em Educação Física. **Colloquium: Health And Education**, Mooca (Sp), v. 1, n. 2, p. 01-19, 2021
37. COSTA, R.M. et al. Perivascular Adipose Tissue as a relevant fat depot for Cardiovascular Risk in Obesity. **Frontiers in Physiology**. v. 9, 2018.
38. COVITEL, Inquérito Telefônico de Fatores de Risco para Doenças Crônicas Não Transmissíveis em Tempos de Pandemia – Covitel 2 [livro eletrônico] São Paulo, SP : Vital Strategies, Umane, 2023.
39. DA NOBREGA. The subacute effects of exercise: concept, characteristics, and clinical implications. **Exerc Sport Sci Rev** 2005;33:84–7.
40. DEFURIA, J. et al. B cells promote inflammation in obesity and type 2 diabetes through regulation of T-cell function and an inflammatory cytokine profile. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 13, p. 5133–5138, 26 mar. 2013.
41. DEIULIIS, J. et al. Visceral Adipose Inflammation in Obesity Is Associated with Critical Alterations in Tregulatory Cell Numbers. **PLoS ONE**, v. 6, n. 1, p. e16376, 26 jan. 2011.
42. DESCHEPPER, C. F. et al. Characterization of blood pressure and morphological traits in cardiovascular-related organs in 13 different inbred mouse strains. **Journal of Applied Physiology**, v. 97, n. 1, p. 369–376, 1 jul. 2004.
43. DE MATTEIS, R, et al. (2013). Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. **Nutr Metab Cardiovasc Dis** 23: 582–590.
44. DE MELLO, A. H. et al. Mitochondrial dysfunction in obesity. **Life Sciences**, v. 192, p. 26–32, 1 jan. 2018.
45. FERNÁNDEZ-RIEJOS, P. et al. Role of Leptin in the Activation of Immune Cells. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 1–8, 2010.
46. FERREIRA, J.C et al. Maximal Lactate Steady State In Running Mice: Effect Of Exercise Training. **Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology**, São Paulo, v. 34, p. 760-765, 17 abr. 2007.
47. FÉSÜS, G. et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. **Cardiovascular Research**, v. 75, n. 4, p. 719–727, 1 set. 2007.

48. FIUZA-LUCES, C. et al. Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 12, p. 731–743, 16 ago. 2018.
49. FRITZEN, A. M. et al. New Nordic Diet–Induced Weight Loss Is Accompanied by Changes in Metabolism and AMPK Signaling in Adipose Tissue. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 9, p. 3509–3519, set. 2015.
50. FRYAR, D. et al. Hypertension prevalence and control among adults: United States, 2015–2016. **NCHS Data Brief**. 2017;289:1–8.
51. FUJITA, M.; HATA, A. Sex and age differences in the effect of obesity on incidence of hypertension in the Japanese population: A large historical cohort study. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 8, n. 1, p. 64–70, jan. 2014.
52. FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 6, p. 1583–1606, 15 set. 2011.
53. FUSTER, J. J. et al. Obesity-Induced Changes in Adipose Tissue Microenvironment and Their Impact on Cardiovascular Disease. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1786–1807, 27 maio 2016.
54. GÁLVEZ-PRIETO, B. et al. Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue and Leptin are Reduced in Hypertension. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3, 2012.
55. GARBER, C.E; BLISSMER, B; DESCHENES, M.R; FRANKLIN, B.A; LAMONTE, M.J; LEE, I.M. et al. American College of Sports Medicine position stand. quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc** 2011;43: 1334–59
56. GIL-ÓRTEGA, M.; SOMOZA, B.; ARANGUEZ, M.; RUIZ-GAYO, M. FERNANDEZ-ALFONSO, M.S. Changes in resistance artery function during the development of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 54, n.4, p.105-106, 2009.
57. GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nature reviews. Immunology**, v. 11, n. 9, p. 607–15, 2011.
58. GOOSSENS, G. H. et al. Increased Adipose Tissue Oxygen Tension in Obese Compared With Lean Men Is Accompanied by Insulin Resistance, Impaired Adipose

Tissue Capillarization, and Inflammation. **Circulation**, v. 124, n. 1, p. 67–76, 5 jul. 2011.

59. GREENSTEIN, A. S. et al. Local Inflammation and Hypoxia Abolish the Protective Anticontractile Properties of Perivascular Fat in Obese Patients. **Circulation**, v. 119, n. 12, p. 1661–1670, 31 mar. 2009.

60. GUPTA, M. et al. Angiotensin Converting Enzyme 2 Contributes to Sex Differences in the Development of Obesity Hypertension in C57BL/6 Mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 32, n. 6, p. 1392–1399, jun. 2012.

61. GUZIK, T. J. et al. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. **Cardiovascular Research**, v. 113, n. 9, p. 1009–1023, 1 jul. 2017.

62. GYLLENHAMMER, L. E. et al. Lower omental t-regulatory cell count is associated with higher fasting glucose and lower β -cell function in adults with obesity. **Obesity**, v. 24, n. 6, p. 1274–1282, 2 maio 2016.

63. HALES C. et al. Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2015-2016. **NCHS Data Brief**. 2017;288:1–8.

64. HAMBRECHT, R. et al. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. **Circulation**, v. 107, n. 25, p. 3152–8, 2003.

65. HARMON, D. B. et al. Protective Role for B-1b B Cells and IgM in Obesity-Associated Inflammation, Glucose Intolerance, and Insulin Resistance. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 4, p. 682–691, 1 abr. 2016.

66. HOU, N.; LUO, J.-D. Leptin and cardiovascular diseases. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 38, n. 12, p. 905–913, 27 nov. 2011.

67. HESPE, G. E. et al. Exercise training improves obesity-related lymphatic dysfunction. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 15, p. 4267–4282, 1 ago. 2016.

68. HØYDAL, Morten A.; WISLØFF, Ulrik; KEMI, Ole J.; ELLINGSEN, Øyvind. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. **European Journal Of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 753-760, dez. 2007. Oxford University Press (OUP).

69. HU, H. et al. Roles of Perivascular Adipose Tissue in Hypertension and Atherosclerosis. **Antioxidants & Redox Signaling**, 2 jun. 2020.
70. HUBY, A.-C.; OTVOS, L.; BELIN DE CHANTEMÈLE, E. J. Leptin Induces Hypertension and Endothelial Dysfunction via Aldosterone-Dependent Mechanisms in Obese Female Mice. **Hypertension**, v. 67, n. 5, p. 1020–1028, maio 2016.
71. IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde. Um em cada quatro adultos do país estava obeso em 2019: Atenção Primária foi bem avaliada. Estatísticas Sociais. 2020. Acesso em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29204-um-em-cada-quatro-adultos-do-pais-estava-obeso-em-2019>.
72. KAUTZKY-WILLER, A.; HARREITER, J.; PACINI, G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. **EndocrineReviews**, v. 37, n. 3, p. 278–316, 2016.
73. KAWANISHI, N. et al. 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. **Exercise Immunology Review**, v. 16, p. 105–18, 1 jan. 2010.
74. KAWANISHI, N. et al. Exercise Attenuates M1 Macrophages and CD8+ T Cells in the Adipose Tissue of Obese Mice. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 45, n. 9, p. 1684–1693, set. 2013.
75. KETONEN, J.; SHI, J.; MARTONEN, E.; MERVAALA, E. Periadventitial Adipose Tissue Promotes Endothelial Dysfunction via Oxidative Stress in Diet-Induced Obese C57Bl/6 Mice. **CirculationJournal**. v.74, 2010.
76. KEVIN C. KREGEL. Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols. American Physiological Society, 2006.
77. KINTSCHER, U. et al. T-lymphocyte Infiltration in Visceral Adipose Tissue. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 28, n. 7, p. 1304–1310, jul. 2008.
78. KLEINDIENST, A. et al. Exercise does not activate the β 3 adrenergic receptor–eNOS pathway, but reduces inducible NOS expression to protect the heart of obese diabetic mice. **Basic Research in Cardiology**, v. 111, n. 4, 10 maio 2016.
79. KO, J. et al. Exercise-Induced Antisenescence and Autophagy Restoration Mitigate Metabolic Disorder–Induced Cardiac Disruption in Mice. **Medicine and**

Science in Sports and Exercise, v. 55, n. 3, p. 376–388, 13 out. 2022.

80. KOLIAKI, C.; LIATIS, S.; KOKKINOS, A. Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. **Metabolism**, v. 92, n. 92, nov. 2018.

81. KÖNIGSTEIN, K. et al. Training the Vessels: Molecular and Clinical Effects of Exercise on Vascular Health—A Narrative Review. **Cells**, v. 12, n. 21, p. 2544–2544, 30 out. 2023.

82. KORDA, M. et al. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, n. 4, p. H1514–H1521, out. 2008.

83. KORSAGER LARSEN, M.; MATCHKOV, V. V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina**, v. 52, n. 1, p. 19–27, 2016.

84. KRAEMER, R. R.; CHU, H.; CASTRACANE, V. D. Leptin and Exercise. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 9, p. 701–708, out. 2002.

85. KREGE, J. H. et al. A Noninvasive Computerized Tail-Cuff System for Measuring Blood Pressure in Mice. **Hypertension**, v. 25, n. 5, p. 1111–1115, maio 1995.

86. KUMAR, R. et al. Fenfluramine-induced PVAT-dependent contraction depends on norepinephrine and not serotonin. **Pharmacological Research**, v. 140, p. 43–49, 1 fev. 2019.

87. KUMAR, R. et al. Naïve, Regulatory, Activated, and Memory Immune Cells Co-exist in PVATs That Are Comparable in Density to Non-PVAT Fats in Health. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 11 fev. 2020.

88. LARSON-MEYER, D. E. et al. Caloric Restriction with or without Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 42, n. 1, p. 152–159, jan. 2010.

89. LAVIE, C.J.; ARENA, R.; SWIFT, D.L.; JOHANNSEN, N.M.; SUI, X.; LEE, D.; EARNEST, C.P.; CHURCH, T.S.; O'KEEFE, J.H.; MILANI, R.V.; BLAIR, S.N. Exercise and the Cardiovascular System: Clinical Science and Cardiovascular Outcomes. **Circ Res**. v.117, n.2, p. 207–219, 2015.

90. LEE, S.; YOON SOO PARK; ZHANG, C. Exercise Training Prevents Coronary Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetic Mice. **American journal of biomedical sciences**, p. 241–252, 1 out. 2011.

91. LE GARF, S. et al. Complementary Immunometabolic Effects of Exercise and PPAR β/δ Agonist in the Context of Diet-Induced Weight Loss in Obese Female

- Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, p. 5182–5182, 19 out. 2019.
92. LI, X.; MA, Z.; ZHU, Y. Z. Regional Heterogeneity of Perivascular Adipose Tissue: Morphology, Origin, and Secretome. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 22 jun. 2021.
93. LI, R. et al. Effects of Genistein and Exercise Training on Brain Damage Induced by a High-Fat High-Sucrose Diet in Female C57BL/6 Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1–11, 17 maio 2022.
94. LIAO, J. et al. Dysfunction of perivascular adipose tissue in mesenteric artery is restored by aerobic exercise in high-fat diet induced obesity. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 48, n. 5, p. 697–703, 12 out. 2020.
95. LIMA, R.; WOFFORD, M.; RECKELHOFF, J. F. Hypertension in Postmenopausal Women. **Current Hypertension Reports**, v. 14, n. 3, p. 254–260, 17 mar. 2012.
96. LOHN, M.; DUBROVSKA, G.; LAUTERBACH, B.; LUFT, F.C.; GOLLASCH, M.; SHARMA, A.M. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. **FASEB J.** v.16, n.9, p. 1057–1063, 2002.
97. LOPES, R. A. M. et al. Testosterone and Vascular Function in Aging. **Frontiers in Physiology**, v. 3, 10 abr. 2012.
98. LUMENG, C. N.; BODZIN, J. L.; SALTIEL, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 1, p. 175–184, 2 jan. 2007.
99. LYNCH, F. M. et al. Perivascular adipose tissue-derived adiponectin activates BKCa channels to induce anticontractile responses. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 304, n. 6, p. H786–H795, 15 mar. 2013.
100. MAENHAUT, N.; VAN DE VOORDE, J. Regulation of vascular tone by adipocytes. **BMC Medicine**. v.9, n.25, 2011.
101. MAHLAKÖIV et al. Stromal cells maintain immune cell homeostasis in adipose tissue via production of interleukin-33. **Science immunology**, v. 4, n. 35, 24 maio 2019.
102. MAN, A. W. C. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase in the Perivascular Adipose Tissue. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1754, 21 jul. 2022.

103. MAN, A. W. C. et al. Perivascular Adipose Tissue Oxidative Stress in Obesity. **Antioxidants**, v. 12, n. 8, p. 1595–1595, 10 ago. 2023.
104. MANRIQUE-ACEVEDO, C. et al. Obesity and cardiovascular disease in women. **International Journal of Obesity**. 2020.
105. MARCEAU, F. et al. Vascular smooth muscle contractility assays for inflammatory and immunological mediators. **International Immunopharmacology**, v. 10, n. 11, p. 1344–1353, nov. 2010.
106. MARCHESI, C.; EBRAHIMIAN, T.; ANGULO, O.; PARADIS, P.; SCHIFFRIN, E.L. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome. **Hypertension**. v.45, n.6. p. 1384-1392, 2009.
107. MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000Prime Reports**, v. 6, 3 mar. 2014.
108. MATTSON, D. L. Comparison of arterial blood pressure in different strains of mice. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 5, p. 405–408, 1 maio 2001.
109. MCGOWAN, E. et al. Impact of 4 weeks of western diet and aerobic exercise training on whole-body phenotype and skeletal muscle mitochondrial respiration in male and female mice. **Physiological Reports**, v. 10, n. 24, 1 dez. 2022.
110. MEIJER, R. I. et al. Perivascular Adipose Tissue Control of Insulin-Induced Vasoreactivity in Muscle Is Impaired in db/db Mice. **Diabetes**, v. 62, n. 2, p. 590–598, 9 out. 2012.
111. MEIJER, R. I. et al. Insulin-induced changes in skeletal muscle microvascular perfusion are dependent upon perivascular adipose tissue in women. **Diabetologia**, v. 58, n. 8, p. 1907–1915, 24 maio 2015.
112. MENDIZÁBAL, Y.; LLORENS, S.; NAVA, E. Vasoactive effects of prostaglandins from the perivascular fat of mesenteric resistance arteries in WKY and SHROB rats. **Life sciences**, v. 93, n. 25-26, p. 1023–1032, 1 dez. 2013.
113. MEZIAT, C.; BOULGHOBRA, D.; STROCK, E. et al. Exercise training restores eNOS activation in the perivascular adipose tissue of obese rats: Impact on vascular function. **Nitric Oxide**. v.86, p.63-67, 2019.
114. MIAO, C.-Y.; LI, Z.-Y. The role of perivascular adipose tissue in vascular smooth muscle cell growth. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 3, p. 643–658, 10 jan. 2012.

115. MIJIT, M.; CARACCILOLO, V.; MELILLO, A. et al. Role of p53 in the regulation of cellular senescence. **Biomolecules**. v.10, n. 3, p. 2-16, 2020.
116. MIN, S. Y. et al. Human “brite/beige” adipocytes develop from capillary networks and their implantation improves metabolic homeostasis in mice. **Nature Medicine**, v. 22, n. 3, p. 312–318, 25 jan. 2016.
117. MINAMINO, T. et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. **Nature Medicine**, v. 15, n. 9, p. 1082–1087, 1 set. 2009.
118. MISSO, M. L. et al. Cellular and Molecular Characterization of the Adipose Phenotype of the Aromatase-Deficient Mouse. **Endocrinology**, v. 144, n. 4, p. 1474–1480, abr. 2003.
119. MORRISON, S., F. Central neural pathways for thermoregulation. **Frontiers in Bioscience**, v. 16, n. 1, p. 74, 2011.
120. MURAWSKA-CIAŁOWICZ, E. et al. Influence of Training and Single Exercise on Leptin Level and Metabolism in Obese Overweight and Normal-Weight Women of Different Age. v. 19, n. 19, p. 12168–12168, 26 set. 2022.
121. NARASIMHAN, A. et al. Cellular Senescence in Obesity and Associated Complications: a New Therapeutic Target. **Current Diabetes Reports**, v. 22, n. 11, p. 537–548, 14 out. 2022.
122. NASEEM, K. M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. **Molecular aspects of medicine**, v. 26, n. 1-2, p. 33–65, 2005.
123. NOFER, J.-R. Estrogens and atherosclerosis: insights from animal models and cell systems. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 48, n. 2, p. R13–R29, 20 fev. 2012.
124. NYSTORIAK, M. A.; BHATNAGAR, A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 5, n. 135, 28 set. 2018.
125. OLIVEIRA, A. G. et al. Acute exercise induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization in diet-induced obese rats. **Obesity**, v. 21, n. 12, p. 2545–2556, 11 jun. 2013.
126. OMAR, A. et al. Proinflammatory Phenotype of Perivascular Adipocytes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, n. 8, p. 1631–1636, ago. 2014.
127. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global status report on physical activity 2022. World Health Organization. out, 2022.

128. ORIOWO, M. A. Perivascular Adipose Tissue, Vascular Reactivity and Hypertension. **Medical Principles and Practice**, v. 24, n. s1, p. 29–37, 2014.
129. OU, M.-Y. et al. Adipose tissue aging: mechanisms and therapeutic implications. **Cell Death & Disease**, v. 13, n. 4, abr. 2022.
130. PADILLA, J. et al. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 7, p. R543–R552, 1 abr. 2013.
131. PALMER, A. K.; TCHKONIA, T.; KIRKLAND, J. L. Targeting cellular senescence in metabolic disease. **Molecular Metabolism**, v. 66, p. 101601, dez. 2022.
132. PARLEE, S. D. et al. Quantifying Size and Number of Adipocytes in Adipose Tissue. **Methods in Enzymology**, p. 93–122, 2014.
133. PETRIDOU, A.; SIOPI, A.; MOUGIOS, V. Exercise in the management of obesity. **Metabolism**, v. 92, n. 92, p. 163–169, mar. 2019.
134. PETTERSSON, U.S. et al. Female mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome and increase the regulatory T cell population in adipose tissue. **Plos One**. v.7, n.9, 2012.
135. POLICE, S. B. et al. Obesity Promotes Inflammation in Periaortic Adipose Tissue and Angiotensin II-Induced Abdominal Aortic Aneurysm Formation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 29, n. 10, p. 1458–1464, out. 2009.
136. POPKO, K.; GORSKA, E.; STELMASZCZYK-EMMEL, A.; PLYWACZEWSKI, R.; STOKLOSA, A. et al. Proinflammatory cytokines Il-6 and TNF-alpha and the development of inflammation in obese subjects. **Eur J Med Res**. v. 15, p. 120–122, 2010.
137. POWELL-WILEY, T. M. et al. Obesity and Cardiovascular disease: a Scientific Statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 143, n. 21, 22 abr. 2021.
138. RACIC, M. et al. Dendritic Cells Promote Macrophage Infiltration and Comprise a Substantial Proportion of Obesity-Associated Increases in CD11c+ Cells in Adipose Tissue and Liver. **Diabetes**, v. 61, n. 9, p. 2330–2339, 30 jul. 2012.
139. RICARDO-GONZALEZ, R. R. et al. IL-4/STAT6 immune axis regulates peripheral nutrient metabolism and insulin sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 52, p. 22617–22622, 13 dez. 2010.

140. ROBISON, L.S.; ALBERT, N.M.; CAMARGO, L.A. et al. High-fat Diet-induced obesity causes sex-specific deficits in adult hippocampal neurogenesis in mice. **ENEURO**. v.7, n.1, 2020.
141. RODRÍGUEZ et al. The Inhibitory Effect of Leptin on Angiotensin II-Induced Vasoconstriction in Vascular Smooth Muscle Cells Is Mediated via a Nitric Oxide-Dependent Mechanism. v. 148, n. 1, p. 324–331, 1 jan. 2007.
142. ROQUE, F. R. et al. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. **British Journal of Pharmacology**, v. 168, n. 3, p. 686–703, 16 jan. 2013.
143. RUBIO-TOMÁS, T. et al. Nutrition and cellular senescence in obesity-related disorders. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 99, p. 108861, 1 jan. 2022.
144. RUFINI, A.; TUCCI, P.; CELARDO, I. et al. Senescence and aging: the critical roles of p53. **Oncogene**. v.32, p. 5129-5143, 2013.
145. RUSSO, L.; LUMENG, C. N. Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. **Immunology**, v. 155, n. 4, p. 407–417, 19 out. 2018.
146. SAFDAR, A. et al. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 10, p. 4135–4140, 22 fev. 2011.
147. SACKS, H.; SYMONDS, M. E. Anatomical Locations of Human Brown Adipose Tissue: Functional Relevance and Implications in Obesity and Type 2 Diabetes. **Diabetes**, v. 62, n. 6, p. 1783–1790, 23 maio 2013.
148. SAMAAN, M. C. et al. Endurance interval training in obese mice reduces muscle inflammation and macrophage content independently of weight loss. **Physiological Reports**, v. 2, n. 5, p. e12012, maio 2014.
149. SAMAR et al. Cardiovascular Fat, Menopause, and Sex Hormones in Women: The SWAN Cardiovascular Fat Ancillary Study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 100, n. 9, p. 3304–3312, 15 jul. 2015.
150. SAMUELSSON, A.-M. et al. Sucrose feeding in mouse pregnancy leads to hypertension, and sex-linked obesity and insulin resistance in female offspring. **Frontiers in Physiology**, v. 4, 2013.
151. SANTOS, A. L.; SINHA, S. Obesity and aging: Molecular mechanisms and therapeutic approaches. **Ageing Research Reviews**, v. 67, p. 101268, maio 2021.

152. SANTOS, N. D. C. - et al. Protocolos De Treinamento Físico Em Modelos Experimentais Usados Na Pesquisa Em Educação Física. **Colloquium: health and education**, v. 1, n. 2, p. e019, 8 jun. 2021.
153. SCHAFER, M. J. et al. Exercise Prevents Diet-Induced Cellular Senescence in Adipose Tissue. **Diabetes**, v. 65, n. 6, p. 1606–1615, 1 jun. 2016.
154. SCHROETER, M. R. et al. Leptin-Dependent and Leptin-Independent Paracrine Effects of Perivascular Adipose Tissue on Neointima Formation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 5, p. 980–987, maio 2013.
155. SHARABI, Y. Susceptibility of the influence of weight on blood pressure in men versus women Lessons from a large-scale study of young adults. **American Journal of Hypertension**, v. 17, n. 5, p. 404–408, maio 2004.
156. SHI, N. et al. Aerobic Exercise Prevents Arterial Stiffness and Attenuates Hyperexcitation of Sympathetic Nerves in Perivascular Adipose Tissue of Mice after Transverse Aortic Constriction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11189–11189, 23 set. 2022.
157. SHIRAKAWA, K. et al. Obesity accelerates T cell senescence in murine visceral adipose tissue. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 12, p. 4626–4639.
158. SHOEMAKER, R. et al. Adipocyte deficiency of ACE2 increases systolic blood pressures of obese female C57BL/6 mice. **Biology of Sex Differences**, v. 10, n. 1, 4 set. 2019.
159. SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. **Redox Biology**, v. 11, p. 613–619, abr. 2017.
160. SKURK, T. et al. Relationship between Adipocyte Size and Adipokine Expression and Secretion. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 3, p. 1023–1033, 1 mar. 2007.
161. SKIBA, D. et al. Anti-atherosclerotic effect of the angiotensin 1-7 mimetic AVE0991 is mediated by inhibition of perivascular and plaque inflammation in early atherosclerosis. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 22, p. 4055–4069, 1 fev. 2017.
162. SMALL, H. Y. et al. Resistin Mediates Sex-Dependent Effects of Perivascular Adipose Tissue on Vascular Function in the Shrsp. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 6897, 3 maio 2019.

163. SMITH, U.; LI Q.; RYDÉN, M. et al. Cellular senescence and its role in white adipose tissue. **International Journal of Obesity**. v.45, p. 934-943, 2021.
164. SOLTIS, E.E.; CASSIS, L. A. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. **Clin. Exp. Hypertens**. A13, p. 277–296, 1991.
165. SOUSA, A.S.; SPONTON, A.C.S.; TRIFONE, C.B.; DELBIN, M.A. Aerobic Exercise training prevents perivascular adipose tissue-induced endothelial dysfunction in thoracic aorta of obese mice. **Frontiers in Physiology**. v.10, 2019.
166. SOUSA, A.S.; SPONTON, A.C.S.; DELBIN, M.A. Perivascular adipose tissue and microvascular endothelial dysfunction in obese mice: beneficial effects of aerobic exercise in adiponectin receptor (AdipoR1) and peNOSser1177. **ClinExpPharmacolPhysiol**. V.48, p. 14430-14440, 2021.
167. SOWERS, J. R. et al. Epithelial sodium channels in endothelial cells mediate diet-induced endothelium stiffness and impaired vascular relaxation in obese female mice. **Metabolism**, v. 99, p. 57–66, out. 2019.
168. SPALDING, K. L. et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**, v. 453, n. 7196, p. 783–787, 4 maio 2008.
169. SPONTON, A.C. da S.; SOUSA, A.S.; DELBIN, M.A. Vascular dysfunction in obesity: Beneficial effects of aerobic exercise training in animal models. **Motriz**. v.23, 2017.
170. SRIKAKULAPU et al. Perivascular Adipose Tissue Harbors Atheroprotective IgM-Producing B Cells. v. 8, 22 set. 2017.
171. STANEK, A.; BROŻYNA-TKACZYK, K.; MYŚLIŃSKI, W. The Role of Obesity-Induced Perivascular Adipose Tissue (PVAT) Dysfunction in Vascular Homeostasis. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3843, 28 out. 2021.
172. STRAND, K. et al. Subtype-Specific Surface Proteins on Adipose Tissue Macrophages and Their Association to Obesity-Induced Insulin Resistance. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 11 abr. 2022.
173. SZASZ, T.; WEBB, C. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. **Clinical Science**. v.122, p.1–12, 2012.
174. SZASZ, T.; BOMFIM, G. F.; WEBB. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. **Vascular Health and Risk Management**, p. 105, mar. 2013.
175. TCHKONIA, T. et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. **Ageing Cell**, v. 9, n. 5, p. 667–684, 1 out. 2010.

176. TÓTH, M. E. et al. Exercise training worsens cardiac performance in males but does not change ejection fraction and improves hypertrophy in females in a mouse model of metabolic syndrome. **Biology of Sex Differences**, v. 13, n. 1, 31 jan. 2022.
177. TRAN, K.-V. et al. Distinct adipocyte progenitor cells are associated with regional phenotypes of perivascular aortic fat in mice. **Molecular Metabolism**, v. 9, p. 199–206, mar. 2018.
178. TSCHÖP, M., HEIMAN, M.L. Rodent obesity models: an overview. **ExpClinEndocrinol& Diabetes**. v.109, p. 307- 319, 2001.
179. TSUKUMO, D.M.; CARVALHO-FILHO, M.A.; CARVALHEIRA, J.B. et al. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. **Diabetes**. v.58, p.1986-1998, 2007.
180. VENTURA-CLAPIER, R. et al. Sex in basic research: concepts in the cardiovascular field. **Cardiovascular Research**, v. 113, n. 7, p. 711–724, 4 maio 2017.
181. VICTORIO, J. A. et al. Modulation of Vascular Function by Perivascular Adipose Tissue: Sex Differences. *Current Pharmaceutical Design*, v. 26, n. 30, p. 3768–3777, 4 set. 2020.
182. VICTORIO, J. A. et al. Effects of High-Fat and High-Fat/High-Sucrose Diet-Induced Obesity on PVAT Modulation of Vascular Function in Male and Female Mice. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, 10 set. 2021.
183. WANG, Y. et al. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 3, p. 555–563, 1 mar. 2005.
184. WANG, D. et al. Endothelial Dysfunction and Enhanced Contractility in Microvessels From Ovariectomized Rats. *Hypertension*, v. 63, n. 5, p. 1063–1069, maio 2014.
185. WANG, C. et al. Effects of Long-Term Aerobic Exercise on Perivascular Adipose Tissue Function and Akt/eNOS/NO Pathway in Obese Rats. **Artery Research**, 1 abr. 2023.
186. WANG, Y. et al. Differential effects of Mas receptor deficiency on cardiac function and blood pressure in obese male and female mice. **American Journal of Physiology-heart and Circulatory Physiology**, v. 312, n. 3, p. H459–H468, 1 mar. 2017.
187. WEISBERG, S.P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J. Clin. Invest.** v. 112, p. 1796–1808, 2003.

188. WEISS, R. et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 23, p. 2362–2374, 3 jun. 2004.
189. WENZEL, P. et al. Lysozyme M–Positive Monocytes Mediate Angiotensin II–Induced Arterial Hypertension and Vascular Dysfunction. **Circulation**, v. 124, n. 12, p. 1370–1381, 20 set. 2011.
190. WEST, D.B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **Am J Clin Nutr.** v. 67, p. 505S- 512S, 1998.
191. WESTON, A. H. et al. Stimulated release of a hyperpolarizing factor (ADHF) from mesenteric artery perivascular adipose tissue: involvement of myocyte BKCa channels and adiponectin. **British Journal of Pharmacology**, v. 169, n. 7, p. 1500–1509, 12 jul. 2013.
192. WILDE, E. et al. Tail-Cuff Technique and Its Influence on Central Blood Pressure in the Mouse. **Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease**, v. 6, n. 6, 27 jun. 2017.
193. WINZELL, M. S.; AHRÉN, B. The high-fat Diet-fed mouse: A model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. **Diabetes**. v.53, sup. 3, S215-S219, 2004.
194. WITHERS, S. B. et al. cGMP-dependent protein kinase (PKG) mediates the anticontractile capacity of perivascular adipose tissue. *Cardiovascular Research*, v. 101, n. 1, p. 130–137, 4 out. 2013.
195. WITHERS, S.B.; FORMAN, R.; MEZA-PEREZ, S. et al. Eosinophils are key regulators of perivascular adipose tissue and vascular functionality. **Scientific Reports**. 2017.
196. WU, D. et al. Eosinophils Sustain Adipose Alternatively Activated Macrophages Associated with Glucose Homeostasis. **Science**, v. 332, n. 6026, p. 243–247, 24 mar. 2011.
197. XIA, N.; HORKE, S.; HABERMEIER, A.; CLOSS, E.I.; REIFENBERG, G.; GERICKE, A.; MIKHED, Y.; MÜNZEL, T.; DAIBER, A.; FÖRSTERMANN, U.; LI, H. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. **ArteriosclerThrombVasc Biol.** v. 36, p.78-85, 2016.
198. XIA, N.; LI, H. The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3425–3442, 2017.

199. XU, H. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J. Clin. Invest.** v.112, p. 1821–1830, 2003.
200. XU, X.; YING, Z.; CAI, M. et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. **Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol.** v. 300, p. R1115-R1125, 2011.
201. XU, J.-W. et al. Estrogen improved metabolic syndrome through down-regulation of VEGF and HIF-1 α to inhibit hypoxia of periaortic and intra-abdominal fat in ovariectomized female rats. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 8, p. 8177–8185, 9 maio 2012.
202. XUE, W. et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. **Nature**, v. 445, n. 7128, p. 656–660, 24 jan. 2007.
203. YANG, J. et al. Effects of Long-Term DHA Supplementation and Physical Exercise on Non-Alcoholic Fatty Liver Development in Obese Aged Female Mice. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 501–501, 3 fev. 2021.
204. YIANNIKOURIS, F. et al. Adipocyte Deficiency of Angiotensinogen Prevents Obesity-Induced Hypertension in Male Mice. **Hypertension**, v. 60, n. 6, p. 1524–1530, dez. 2012.
205. YING, W. et al. Adipose tissue B2 cells promote insulin resistance through leukotriene LTB₄/LTB₄R1 signaling. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 3, p. 1019–1030, 13 fev. 2017.
206. YOKOYAMA, M. et al. Inhibition of Endothelial p53 Improves Metabolic Abnormalities Related to Dietary Obesity. **Cell Reports**, v. 7, n. 5, p. 1691–1703, 1 jun. 2014.
207. YUAN, L.-Y. et al. Aerobic Exercise Attenuates Pressure Overload-Induced Cardiac Dysfunction through Promoting Skeletal Muscle Microcirculation and Increasing Muscle Mass. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–11, 15 nov. 2021.
208. ZEMSE, S. M. et al. Interleukin-10 inhibits the in vivo and in vitro adverse effects of TNF- α on the endothelium of murine aorta. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 299, n. 4, p. H1160–H1167, 1 out. 2010.
209. ZHOU, Y.; LI, H.; XIA, N. The Interplay Between Adipose Tissue and Vasculature: Role of Oxidative Stress in Obesity. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, 4 mar. 2021.

9. ANEXOS

9.1 Anexo A – Parecer da Comissão de Ética para o uso de Animais.

CERTIFICADO CEUA nº 180/2021



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS, DO ESTRESSE OXIDATIVO, DA SENESCÊNCIA E NA FUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO PERIVASCULAR EM FÊMEAS OBESAS**, registrada com o nº **5849-1/2021**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. MARIA ANDREIA DELBIN e Maria Andréia Delbin**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP, em reunião de **19/08/2021**.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	01/11/2021 a 31/12/2024
Vigência da autorização para manipulação animal:	19/08/2021 a 31/12/2024
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo isogênico / C57BL6/JUnib
No. de animais:	40
Idade/Peso:	4.00 Semanas / 20.00 Gramas
Sexo:	40 Fêmeas
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo isogênico / C57BL6/JUnib
No. de animais:	40
Idade/Peso:	4.00 Semanas / 20.00 Gramas
Sexo:	40 Fêmeas
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo isogênico / C57BL6/JUnib
No. de animais:	40
Idade/Peso:	4.00 Semanas / 20.00 Gramas
Sexo:	40 Fêmeas
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo isogênico / C57BL6/JUnib
No. de animais:	40
Idade/Peso:	4.00 Semanas / 20.00 Gramas
Sexo:	40 Fêmeas
Origem:	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório-CEMIB
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério 1 - Área de Fisiologia e Biofísica, DBEF/IB/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização a junto ao IBAMA, SISBIO ou CIBio e é restrita a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, **02 de setembro de 2021**.

Prof. Dr. Wagner José Fávaro
Presidente

Rosângela dos Santos
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Documento assinado. Verificar autenticidade em sigad.unicamp.br/verifica
Informar código F8B4229C 1B4E4273 A48B8700 FA24F2A8

9.2 Anexo B – Declaração referente a direitos autorais.

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Efeitos do Treinamento Físico Aeróbio nos Biomarcadores Inflamatórios e do Estresse Oxidativo do Tecido Adiposo Perivascular de Camundongos Fêmeas Obesas**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 17 de setembro de 2024.

Assinatura : Teresa Maria Da Ré Silva
Nome do(a) autor(a): **Teresa Maria Da Ré Silva**
RG n.º 14.251.040

Assinatura : Maria Andréia Delbin
Nome do(a) orientador(a): **Maria Andréia Delbin**
RG n.º 27.697.202-8