

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte

Camila Berbert Gomes

**EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE FORÇA MUSCULAR SOBRE A
MEMÓRIA, RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E NEURONAIS EM RATOS
RESISTENTES À INSULINA**

Belo Horizonte
2023

Camila Berbert Gomes

**EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE FORÇA MUSCULAR SOBRE A
MEMÓRIA, RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E NEURONAIS EM RATOS
RESISTENTES À INSULINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Esporte da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências do Esporte.

Orientadora: Profa. Dra. Danusa Dias Soares

Coorientador: Prof. Dr. Bruno Pereira Melo

Belo Horizonte

2023

G633e Gomes, Camila Berbert
2023 Efeitos agudos do exercício de força muscular sobre a memória, respostas inflamatórias e neuronais em ratos resistentes à insulina. [manuscrito] / Camila Berbert Gomes - 2023.
63 f.: il.

Orientadora: Danusa Dias Soares
Co-orientador: Bruno Pereira Melo

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional.

Bibliografia: f. 52-62

1. Resistência à insulina - Teses. 2. Memória - Teses. 3. Exercício físico - Teses.
I. Soares, Danusa Dias. II Melo, Bruno Pereira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional. III. Título.

CDU: 796.015.52



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E TERAPIA OCUPACIONAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO ESPORTE

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO / TESE

CAMILA BERBERT GOMES

Às **14:00 horas** do dia **05 de maio de 2023**, a comissão examinadora de dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa Pós-Graduação em Ciências do Esporte (PPGCE), reuniu-se, de modo híbrido, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado **“EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE FORÇA MUSCULAR SOBRE A MEMÓRIA, RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E NEURONAIS EM RATOS RESISTENTES À INSULINA”**. Abrindo a sessão, a presidente da comissão, Prof^a. Dr^a. Danusa Dias Soares (UFMG), orientadora, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para a candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do resultado.

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA 391^a DISSERTAÇÃO DO PPGCE:

Prof^a. Dr^a. Danusa Dias Soares (Orientadora) – UFMG

Prof. Dr. Bruno Pereira Melo (Co-orientador) - UNITOP

Prof. Dr. Luciano Sales Prado - EEFFTO/UFMG

Prof. Dr. Rodrigo Sudatti Delevatti – UFSC

Após as indicações, a candidata foi considerada: **APROVADA**

O resultado foi comunicado publicamente para a candidata pela presidente da comissão examinadora. Nada mais havendo a tratar, a presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 22 de junho de 2023.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Danusa Dias Soares, Professora do Magistério Superior**, em 19/07/2023, às 09:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciano Sales Prado, Membro de comissão**, em 24/08/2023, às 11:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Sudatti Delevatti, Usuário Externo**, em 01/04/2024, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Pereira Melo, Usuário Externo**, em 02/04/2024, às 13:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2409034** e o código CRC **DD9A3756**.

Agradeço à minha família pelo apoio em
cada passo dado.
Este trabalho é dedicado a vocês.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação foi construída contando com a colaboração de muitas pessoas, sendo em forma de participação diária, orientação, conselho, conversas, apoio e/ou incentivos. Sendo assim, aproveito esse momento para agradecer cada pessoa que contribuiu na minha caminhada e na construção desse trabalho.

Agradeço aos meus pais, Altair (Tuca) e Márcia, pelo amor incondicional desde o primeiro dia. Sou muito grata pela educação que me deram e pelo conhecimento que me permitiram conquistar. Obrigada pelo apoio em cada passo dado. Amo vocês imensamente!

Agradeço às minhas irmãs, Marcela e Paloma, e à minha sobrinha Letícia (Lelê) pelo apoio e amizade durante essa jornada.

Agradeço à minha namorada Carla pela presença. Obrigada pela parceria, pelos incentivos e companhia no caminho.

Agradeço aos professores Danusa e Bruno pela orientação desde a iniciação científica e pela confiança em minha formação. As suas valiosas indicações fizeram toda a diferença.

Agradeço aos professores Samuel e Dawit pelos conselhos diários.

Agradeço aos meus colegas do LAFISE Roberto Jr., Júlia Sousa, Daniel Massote, Aline (Alinex), Gustavo Zanetti, João Gabriel e Guilherme Pizzol pelos momentos de conversa, descontração e, muitas vezes, ajuda durante o processo.

A todos vocês minha gratidão!

“Somos quem somos por obra daquilo que aprendemos e de que lembramos.”

Eric Kandel

RESUMO

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) possui a maior prevalência entre os casos de diabetes no mundo (90 a 95% dos casos) e sua crescente está relacionada ao sedentarismo, alimentação inadequada e obesidade. A principal característica do DM2 é a resistência à insulina (RI) em tecidos periféricos, o que leva ao desenvolvimento de um quadro hiperglicêmico. Além disso, cronicamente a RI pode desencadear o aumento de citocinas inflamatórias e redução da massa e da força muscular. Ademais, esse quadro pode prejudicar o sistema nervoso central, levando ao aumento do *status* pró-inflamatório no cérebro, redução do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e conseqüente decréscimo na memória. A fim de compreender melhor os mecanismos fisiológicos envolvidos no DM2 e na RI, estudos têm utilizado modelos experimentais de roedores, sendo os de maior validade ecológica aqueles que realizam a indução por meio do consumo de dietas hipercalóricas. Anteriormente, um estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa (LAFISE) padronizou uma dieta com menor porcentagem de gordura (48%) associada à ingestão de solução de frutose para indução de RI. Entretanto, ainda não se sabe se essa dieta é capaz de promover prejuízos na memória. O exercício físico (EF) é fortemente recomendado como um agente não-farmacológico para o controle do DM2 e da RI, bem como de suas complicações. Sabe-se que tanto o exercício aeróbico (EA) quanto o exercício de força muscular (EFM) são capazes de promover a melhora metabólica e cognitiva de indivíduos com RI. Entretanto, estudos anteriores concentraram-se principalmente na investigação dos efeitos agudos e crônicos do EA, sendo necessário elucidar os efeitos agudos do EFM sobre aspectos inflamatórios, neuronais e cognitivos de ratos resistentes à insulina. O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos agudos do EFM sobre a memória, respostas neuronais e inflamatórias de ratos resistentes à insulina. Para isso, primeiramente foi investigado se a indução de RI promove piora da força e da memória, mudança no perfil inflamatório muscular e hipocampal e redução da concentração de BDNF no hipocampo. Foi observado que os ratos resistentes à insulina apresentaram inflamação muscular, piora da memória de longo prazo (MLP) e redução da concentração de BDNF no hipocampo. A partir disso, foram investigados os efeitos agudos do EFM sobre a MLP, a concentração de BDNF no hipocampo e perfil inflamatório muscular e hipocampal de ratos resistentes à insulina. Foi observado que o EFM evitou a piora da MLP, causada pela indução de RI, aumentou a concentração de BDNF no hipocampo e aumentou o *status* pró-inflamatório muscular. Assim, é possível concluir que o EFM é capaz de evitar a piora da MLP e que o aumento da concentração de BDNF no hipocampo, induzido pelo exercício, pode ser uma via de explicação para essa melhora cognitiva.

Palavras-chave: Resistência à insulina. Memória. BDNF. Exercício de força.

ABSTRACT

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) has the highest prevalence among all cases of diabetes in the world (90 to 95% of cases) and its increase is related to a sedentary lifestyle, inadequate diet, and obesity. The main characteristic of T2DM is insulin resistance (IR) in peripheral tissues, which leads to the development of a hyperglycemic condition. Furthermore, chronically, IR can lead to an increase in inflammatory cytokines and a reduction in muscle mass and strength. Furthermore, this condition can harm the central nervous system, what may cause an increased pro-inflammatory status in the brain, a reduced brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentration, and a consequent decrease in memory. To better understand the physiological consequences of T2DM and IR, studies have used experimental models of rodents, with those with greater ecological validity those that induce T2DM and IR through hypercaloric diets. Previously, a study carried out by our research group (LAFISE) standardized a hyperlipidic diet (48% of fat) associated with the ingestion of a fructose solution (30%) to induce IR. However, it is still unknown whether IR induced by this diet can promote memory damage. Physical exercise (PE) is strongly recommended as a non-pharmacological tool for the management of the complications of T2DM and IR. It is already known that both aerobic exercise (AE) and resistance exercise (RE) produce metabolic and cognitive improvements in individuals with IR. However, previous studies focused mainly on investigating the acute and chronic effects of AE. rats. Thus, the present study aimed to investigate the acute effects of RE on memory, neurotrophic and inflammatory responses in insulin-resistant rats. Initially we investigated whether IR induction with the high-fat diet and fructose promotes the worsening of strength and memory, alters muscle and hippocampal inflammatory profiles, and reduces BDNF concentration in the hippocampus. It was observed that insulin-resistant rats showed muscle inflammation, worsening of long-term memory (LTM) and reduced concentration of BDNF in the hippocampus. After we investigated if an acute bout of RE could alter these responses in the insulin-resistant rats. The results showed that acute bout of RE prevented the worsening of LTM caused by IR induction, increased the concentration of BDNF in the hippocampus, and increased muscle pro-inflammatory status. Thus, it is possible to conclude that an acute bout of RE may mitigate the adverse effects of IR on memory, neurotrophic and inflammatory factors in the rats.

Keywords: Insulin resistance. Memory. BDNF. Resistance exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Delineamento experimental: experimento 1	13
Figura 2. Objeto A	15
Figura 3. Objeto B	15
Figura 4. Objeto C	15
Figura 5. Massa corporal ao longo do tempo e delta após 60 dias de dieta	20
Figura 6. Teste de tolerância oral à glicose (TTOG) 60 dias após início da dieta	21
Figura 7. Desempenho de força máxima	22
Figura 8. Memória de curto e longo prazo pré e pós 60 dias de dieta	22
Figura 9. Concentração de BDNF no hipocampo	25
Figura 10. Delineamento experimental: experimento 2	30
Figura 11. Sessão experimental: repouso ou exercício de força muscular	31
Figura 12. Memória de longo prazo pré e após sessão experimental	36
Figura 13. Concentração de BDNF no hipocampo após sessão experimental	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Consumo de dieta	20
Tabela 2. Composição corporal	23
Tabela 3. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: gastrocnêmio	24
Tabela 4. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: sóleo	24
Tabela 5. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: hipocampo	24
Tabela 6. Protocolo de exercício agudo de força muscular	33
Tabela 7. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: gastrocnêmio	36
Tabela 8. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: sóleo	37
Tabela 9. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: hipocampo	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	Associação Americana de Diabetes
Akt	Proteína quinase B
AMPK	Proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina
ATG13	Proteína 13 relacionada à autofagia
AUC	Área sob a curva
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hemato-encefálica
Ca²⁺	Cálcio
cAMP	Monofosfato cíclico de adenosina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm²	Centímetro quadrado
cm³	Centímetro cúbico
CON	Grupo controle
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CREB	Proteína de ligação responsiva ao cAMP
dL	Decilitro
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DP	Desvio padrão
EA	Exercício aeróbico
EDL	Extensor longo dos dedos
EF	Exercício físico
EFM	Exercício de força muscular
FoXO	<i>Forkhead box protein</i>
g	Gramma
GLUT4	Transportador de glicose 4
GSK3β	Glicose sintase quinase 3 beta
HFD	Dieta hiperlipídica
IA	Índice de adiposidade
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina 1
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
IR	Receptor de insulina
IRS-1	Substrato de receptor de insulina 1
kcal	Kilocaloria
LAFISE	Laboratório de Fisiologia do Exercício
MC	Massa corporal
MCP	Memória de curto prazo
mg	Miligrama
mL	Mililitro
MLP	Memória de longo prazo

mTORC1	Complexo 1 da proteína alvo mecanístico da rapamicina
NMDAR	Receptor ionotrópico ativado pelo glutamato
PDK1	Piruvato desidrogenase quinase 1
pg	Picograma
PI3K	Fosfoinosítideo 3-quinase
RI	Resistência à insulina
RI.EFM	Grupo resistente à insulina + situação exercício
RI.REP	Grupo resistente à insulina + situação repouso
RON	Reconhecimento de objeto novo
SNC	Sistema nervoso central
TA	Treinamento aeróbico
TAE	Tecido adiposo epididimal
TAM	Tecido adiposo mesentérico
TAR	Tecido adiposo retroperitoneal
TFM	Treinamento de força muscular
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TrkB	Receptor de tirosina quinase B
TTOG	Teste de tolerância oral à glicose
ULK1	Unc-51 quinase ativadora de autofagia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2	OBJETIVOS	22
2.1.	Objetivo geral	22
2.2.	Objetivos específicos	22
3	EXPERIMENTO 1: EFEITOS DA RESISTÊNCIA À INSULINA SOBRE FORÇA MUSCULAR, MEMÓRIAS DE CURTO E LONGO PRAZO, STATUS INFLAMATÓRIO E BDNF EM RATOS <i>WISTAR</i>.....	23
3.1.	Materiais e métodos.....	23
3.1.1.	Cuidados éticos	23
3.1.2.	Amostra	23
3.1.3.	Delineamento experimental	23
3.1.4.	Dieta hiperlipídica e solução de frutose	25
3.1.5.	Tarefa de reconhecimento de objeto novo (RON)	25
3.1.6.	Teste de tolerância oral à glicose	27
3.1.7.	Familiarização à escada vertical	28
3.1.8.	Teste de força máxima	28
3.1.9.	Eutanásia.....	28
3.1.10.	Análise dos dados	29
3.1.10.1	<i>Memória de curto e longo prazo</i>	29
3.1.10.2	<i>Composição corporal</i>	29
3.1.10.3	<i>Citocinas pró e antiinflamatórias</i>	30
3.1.10.4	<i>Fator neurotrófico derivado do cérebro</i>	30
3.1.11.	Análise estatística	30
3.2.	Resultados.....	31
3.2.1.	Consumo de dieta.....	31
3.2.2.	Massa Corporal	31
3.2.3.	Teste de tolerância oral à glicose (TTOG).....	32
3.2.4.	Desempenho de força máxima	33
3.2.5.	Memória de curto e longo prazo	34
3.2.6.	Composição corporal.....	34
3.2.7.	Citocinas pró e anti-inflamatórias.....	35
3.2.8.	Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).....	36
3.3.	Discussão	36
3.4.	Conclusão.....	40
4	EXPERIMENTO 2: EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE FORÇA MUSCULAR SOBRE A MEMÓRIA DE LONGO PRAZO, STATUS INFLAMATÓRIO E BDNF EM RATOS RESISTENTES À INSULINA	40

4.1. Materiais e métodos	40
4.1.1. Cuidados éticos	40
4.1.2. Amostra	40
4.1.3. Delineamento experimental	41
4.1.4. Dieta hiperlipídica e solução de frutose	42
4.1.5. Tarefa de reconhecimento de objeto novo (RON)	43
4.1.6. Familiarização à escada vertical.....	43
4.1.7. Teste de força máxima	44
4.1.8. Exercício de força muscular	44
4.1.9. Eutanásia.....	45
4.1.10. Análise dos dados	45
4.1.11. Análise estatística	46
4.2. Resultados	46
4.2.1. Memória de longo prazo	46
4.2.2. Citocinas pró e anti-inflamatórias.....	47
4.2.3. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).....	48
4.3. Discussão	49
4.4. Conclusão	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXO I	63

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) possui a maior prevalência entre os casos de diabetes no mundo, representando de 90 a 95% de todos os casos de diagnóstico da doença (ADA, 2020). Sua etiologia específica ainda não é conhecida, entretanto, embora a predisposição individual ao DM2 tenha uma forte base genética, estudos sugerem que sua crescente está relacionada à expansão global do estilo de vida sedentário, aos padrões alimentares inadequados e, conseqüente, obesidade (Chatterjee; Khunti; Davies, 2017; Mozaffarian *et al.*, 2009). As principais características do DM2 são a resistência à ação da insulina em tecidos periféricos e, em quadros avançados, sua liberação reduzida, resultando em um estado de hiperglicemia crônica (Stumvoll; Goldstein; Haeften, 2005).

A resistência à insulina é definida como a incapacidade deste hormônio em exercer seu papel na regulação de glicose no sangue, sendo um componente-chave na etiologia do DM2 e a obesidade é a causa mais comum dessa condição em humanos (Johnson; Olefsky, 2013; Kahn; Hull; Utzschneider, 2006). Durante o desenvolvimento da obesidade, o tecido adiposo apresenta uma maior infiltração de macrófagos (Kanda *et al.*, 2006; Weisberg *et al.*, 2003; Xu, H. *et al.*, 2003). Estes secretam altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, resultando numa inflamação crônica de baixo grau que está associada à deficiência na sinalização de insulina e resistência à insulina (Gao *et al.*, 2014; Heilbronn; Campbell, 2008; Lumeng; Saltiel, 2011). Neste estado, ocorre o quadro de hiperglicemia, causado pela baixa captação de glicose pelos tecidos periféricos (principalmente pelos tecidos muscular, hepático e adiposo) e/ou pela produção elevada de glicose pelo fígado e aumento da lipólise. Esse quadro metabólico provoca estresse no pâncreas, causando uma superprodução de insulina (hiperinsulinemia) a fim de manter a normoglicemia (Robertson *et al.*, 2003).

Além do quadro hiperglicêmico e hiperinsulinêmico, a RI pode ocasionar diversas alterações metabólicas, tais como o desequilíbrio na secreção de adipocinas e aumento de citocinas inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6). Além disso, pode acarretar a disfunção mitocondrial (Chen *et al.*, 2015; DeFronzo *et al.*, 2015) e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (Giacco, 2011). Cronicamente, essas alterações

podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares, como retinopatia, nefropatia e doenças cardiovasculares, respectivamente (Zheng; Ley; Hu, 2018).

O músculo esquelético também apresenta prejuízos decorrentes da RI, sendo que a atenuação muscular ocorre principalmente por três mecanismos: aumento do catabolismo proteico, diminuição da síntese proteica no músculo esquelético e aumento da autofagia em células musculoesqueléticas (Liu, Z.; Zhu, 2023). A dificuldade de ação da insulina prejudica a ativação de vias anabólicas e aumenta a ativação do catabolismo, levando a perda de massa muscular (Ebert *et al.*, 2012; Liu, Z.; Zhu, 2023). Além da atenuação da massa muscular, uma revisão sistemática recente mostrou que pessoas com DM2 apresentam redução da força de preensão manual e na força muscular de extensão de joelho. Além disso, foi visto que esses indivíduos apresentam uma maior porcentagem de fibras do tipo II (glicolíticas) e uma menor porcentagem de fibras do tipo I (oxidativas) (Filgueiras *et al.*, 2022).

Alterações na cascata intracelular de sinalização de insulina também têm sido encontradas no sistema nervoso central (SNC) em condições de RI e DM2. Dentre elas estão a redução da fosforilação do receptor de insulina (IR) e da proteína Akt (Piroli *et al.*, 2007; Pratchayasakul *et al.*, 2011), provocando a diminuição da translocação de GLUT4 para a membrana das células (Piroli *et al.*, 2007; Winocur *et al.*, 2005). Da mesma forma, Park *et al.* (2019) observaram a redução da ativação da via IR/IRS-1/PI3K/PDK1/Akt/GSK3 β no cérebro, o que propicia o aumento da apoptose neuronal.

Os prejuízos no SNC não são decorrentes exclusivamente dos danos na sinalização de insulina, a neuroinflamação também é uma condição desenvolvida nos quadros de RI e DM2. Puig *et al.* (2012) verificaram que as concentrações de TNF- α e a ativação de macrófagos foram maiores nos cérebros de camundongos em uma dieta rica em gordura, indicando um estado pró-inflamatório. Dinel *et al.* (2011) observaram uma relação entre altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF- α e IL-6) no cérebro e a redução do reconhecimento espacial de camundongos diabéticos, implicando uma associação entre a neuroinflamação e o comprometimento da memória.

Além da neuroinflamação, estudos anteriores observaram a redução das concentrações da neurotrofina BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) bem

como do IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1), que possuem ação neurotrófica, no hipocampo de ratos que consumiram dietas ricas em gordura (Lindqvist *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2010). Liu *et al.* (2014) e Cavaliere *et al.* (2019) também verificaram uma redução de BDNF no cérebro de roedores resistentes à insulina. A redução tanto de BDNF quanto de IGF-1 levam a prejuízos na proliferação celular e neurogênese hipocampal, podendo culminar em déficits cognitivos (Lindqvist *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2021). Além disso, já está bem consolidado que o BDNF é crítico para a neuroplasticidade dependente de atividade (Egan *et al.*, 2003) e desempenha um papel fundamental na aprendizagem e na memória (Leal *et al.*, 2015).

Com o intuito de compreender os mecanismos fisiológicos envolvidos nos quadros de DM2 e RI, estudos têm utilizado modelos experimentais de ratos e camundongos. Dentre os animais utilizados estão os ratos espontaneamente diabéticos, derivados de cepas geneticamente resistentes à insulina (Shiota; Printz, 2012), e modelos induzidos, podendo ser por meio da administração de drogas como a estreptozotocina e/ou ingestão crônica de dietas hipercalóricas (Lozano *et al.*, 2016). Tendo em vista que padrões alimentares inadequados, como alta ingestão de alimentos ricos em gordura e açúcares, estão relacionados à ascensão de casos de DM2 no mundo (Chatterjee; Khunti; Davies, 2017; Mozaffarian *et al.*, 2009), a indução de RI por meio de dietas hipercalóricas possui uma grande validade ecológica.

Estudos recentes mostraram que o consumo de uma dieta rica em gordura (HFD) por um longo período causa obesidade, aumento de estresse oxidativo (Di Marco *et al.*, 2015), hipertrigliceridemia, hipertrofia dos adipócitos, esteatose hepática e resistência à insulina (Melo *et al.*, 2021). Além disso, no SNC, foi visto que a HFD, a longo prazo, provoca perda sináptica, resistência à insulina (Arnold *et al.*, 2014) e redução da neuroplasticidade (Park *et al.*, 2019). Além dos prejuízos metabólicos provocados, a HFD pode causar declínio cognitivo. Foi visto que a indução de RI por meio da ingestão de HFD provocou prejuízos na aprendizagem espacial (Di Bonaventura *et al.*, 2020; Mamo *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2018; Zuloaga *et al.*, 2016), memória espacial (Arnold *et al.*, 2014; Di Bonaventura *et al.*, 2020; Kosari *et al.*, 2012; McLean *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018), memória de curto (Fu *et al.*, 2017) e longo prazo (Fu *et al.*, 2017; Park *et al.*,

2019) e perfil de ansiedade (Di Bonaventura *et al.*, 2020). Além disso, McLean *et al.* (2018) verificaram que apenas um dia de consumo de HFD provocou decréscimos na memória episódica de camundongos.

Apesar dos resultados dos trabalhos citados anteriormente, ainda não existe um consenso na literatura sobre a composição e o tempo de ingestão de dieta necessários para gerar prejuízos cognitivos. Kosari *et al.* (2012), Zuolaga *et al.* (2015), Fu *et al.* (2016), McLean *et al.* (2018) e Park *et al.* (2019) utilizaram protocolos com dietas compostas de 60% de gordura, entretanto, o tempo de ingestão da dieta variou entre duas e vinte e quatro semanas nestes estudos. Arnold *et al.* (2014) e Di Bonaventura *et al.* (2020) utilizaram protocolos com dietas compostas de 45% de gordura, entretanto, o tempo de ingestão dos protocolos utilizados foram de trinta e duas a quinze semanas, respectivamente. Já Mamo *et al.* (2018) utilizaram um protocolo em que os camundongos consumiram uma dieta composta de 30% de gordura e 15% de frutose durante seis meses.

Apesar da maior parte das pesquisas com animais utilizarem dietas compostas por 60% de gordura, esse valor seria considerado muito elevado para seres humanos. Sendo assim, para uma maior validade ecológica e melhor representação da condição humana, em modelos experimentais o uso de uma dieta composta por uma porcentagem mais baixa de gordura apresenta-se como mais adequado (Ghibaudi *et al.*, 2002). Assim, nosso grupo do Laboratório de Fisiologia de Exercício (Lafise) padronizou um modelo experimental de RI induzida pelo consumo de HFD, composta por 48% do total de energia sob a forma de gordura, associada à ingestão de solução de frutose (solução de 30%) durante 30 dias (Melo *et al.*, 2021). Melo *et al.* (2021) verificaram que o protocolo de indução foi capaz de provocar efeitos que caracterizam a RI, tais como a disfunção no metabolismo da glicose e aumento na concentração de citocinas pró-inflamatórias. Entretanto, ainda não se sabe se esse modelo experimental de RI é capaz de provocar alterações cognitivas e neuronais.

O exercício físico (EF) tem sido utilizado como uma estratégia não-farmacológica para o controle da DM2 e suas complicações. Isso ocorre principalmente porque o EF é capaz de reduzir os níveis de glicemia por meio da estimulação de vias metabólicas independentes da insulina, além de aumentar a sensibilidade à insulina (Richter; Hargreaves, 2013; Sylow *et al.*, 2017). Os

mecanismos fisiológicos envolvidos na melhora do metabolismo glicêmico, decorrentes do EF, estão associados ao aumento da fosforilação de proteínas intracelulares participantes das vias de sinalização da insulina, como Akt e AMPK, bem como à elevação na expressão do transportador de glicose, contribuindo, portanto, para o aumento da captação de glicose em tecidos periféricos (Ferrari *et al.*, 2019; Sylow *et al.*, 2017). Além disso, cronicamente, o EF é capaz de prevenir e tratar complicações derivadas da DM2, promovendo proteção renal (Ito *et al.*, 2015), melhora dos perfis lipídico e inflamatório (Bertram; Brixius; Brinkmann, 2016; Colberg *et al.*, 2016), redução do estresse oxidativo e aumento da neurogênese hipocampal (Bertram; Brixius; Brinkmann, 2016; Yi *et al.*, 2009).

O exercício aeróbico (EA) e o exercício de força muscular (EFM) estão entre os tipos de exercícios mais praticados na atualidade. A Associação Americana de Diabetes (ADA) recomenda a realização de EA e EFM para promover o controle do DM2 e, de acordo com as suas orientações, o EA deve ser realizado pelo menos três vezes por semana, totalizando no mínimo 150 minutos, em uma intensidade moderada à vigorosa (ADA, 2020). Já as recomendações da ADA para o EFM indicam que ele deve ser realizado de duas a três vezes por semana em intensidade moderada à vigorosa, sendo que para iniciantes o nível moderado é o mais indicado (ADA, 2020; Colberg *et al.*, 2016). Já foi observado em pacientes com DM2 que uma única sessão de EA ou EFM é capaz de reduzir substancialmente os níveis de glicemia até 24 horas após a sessão de exercício (Van Dijk *et al.*, 2012). Além disso, os dois tipos de exercício são capazes de promover a melhora do quadro da DM2 e suas complicações (Bellavere *et al.*, 2018; Morais Junior *et al.*, 2017).

O treinamento aeróbico (TA) a longo prazo é capaz de aumentar a aptidão cardiorrespiratória, melhorar o controle da glicemia e dos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) (Mourier *et al.*, 1997; Toledo *et al.*, 2007), aumentar a sensibilidade à insulina e melhorar o perfil lipídico (Chait, 2007). Ademais, o TA parece melhorar alguns aspectos cognitivos em roedores resistentes à insulina. Park *et al.* (2019) verificaram que camundongos obesos, induzido por HFD, submetidos a 12 semanas de TA apresentaram uma melhor aprendizagem espacial, memória espacial e memória de longo prazo quando comparados a camundongos sedentários. Buscando respostas semelhantes, Luvuno, Khathi & Mabandla (2020) investigaram se um protocolo de sete semanas de TA seria capaz de melhorar as funções

cognitivas de ratos pré-diabéticos. Ao final da pesquisa, os autores verificaram que o protocolo foi capaz de melhorar a memória espacial, de curto e longo prazo, entretanto não encontraram diferença na aprendizagem espacial. Além desses achados, Mehta, Singh & Banerjee (2019) observaram que seis semanas de TA (exercício voluntário em roda) foram capazes de melhorar a memória de ratos DM2.

A melhora da aprendizagem e da memória está relacionada ao aumento da neurogênese (Bekinschtein *et al.*, 2011; Oomen *et al.*, 2014) e ativação da sinalização de insulina no hipocampo. Cai *et al.* (2016) observaram que ratos obesos, induzido por HFD, submetidos a oito semanas de TA de intensidade moderada, apresentaram uma maior neuroplasticidade e menor apoptose neuronal quando comparados a ratos sedentários. Corroborando esse resultado, Mehta *et al.* (2019) verificaram que seis semanas de TA foram suficientes para aumentar a sobrevivência neuronal em ratos DM2. Para além desses achados, Park *et al.* (2019) constataram que o TA foi capaz de aumentar a ativação da via da insulina no hipocampo, aumentar a expressão de BDNF e a neurogênese hipocampal. Além disso, uma sessão de EA foi capaz de elevar (2 a 3 vezes) temporariamente as concentrações de BDNF no sangue (Huang *et al.*, 2014).

Apesar de já ter sido mostrado que, a longo prazo, o EFM pode trazer benefícios para o quadro de RI ou DM2, como aumento de força (Castaneda *et al.*, 2002), melhora do perfil lipídico, melhora da saúde cardiovascular (Garber *et al.*, 2011; Gordon *et al.*, 2009), regulação da insulina e da glicose (Craft, 2007), a maioria das pesquisas se concentram em investigar os efeitos do EA para a melhora dos quadros de RI e/ou DM2 (Röhling *et al.*, 2016). Já foi observado que cronicamente o EFM, ou seja, o treinamento de força muscular (TFM) tem importantes ações centrais. Em sua revisão, Cotman, Berchtold & Christie (2007) apresentam que o TFM foi capaz de induzir o aumento de IGF-1 em animais e humanos. Além disso, estudos anteriores verificaram que o TFM provocou o aumento de neurogênese em universitários (Yarrow *et al.*, 2010) e a diminuição de citocinas inflamatórias em mulheres idosas (Ogawa *et al.*, 2010). Cassilhas *et al.* (2012a) e Vilela *et al.* (2017) observaram que ratos saudáveis e ratos idosos, respectivamente, submetidos a oito semanas de TFM apresentaram um melhor desempenho da memória espacial. Além disso, De Sousa *et al.* (2020) verificaram

que quatro semanas de TFM de alta intensidade melhoraram a memória de ratos DM2.

Essa otimização das funções cognitivas promovidas pelo TFM também parece ocorrer devido a modulação de aspectos neuronais. Foi observado que o TFM foi capaz de promover o aumento das concentrações de IGF-1 sérico (Cassilhas *et al.*, 2010; Vale *et al.*, 2009) e hipocampal em ratos (Cassilhas *et al.*, 2012a). Além disso, De Sousa *et al.* (2020) mostraram que, o TF aumentou a sobrevivência neuronal no hipocampo e melhorou o quadro de RI no hipocampo de ratos DM2.

Analisando os estudos anteriores é possível perceber que a maioria se dedicou à investigação dos efeitos crônicos do EA e EFM sobre desfechos metabólicos, neuronais e cognitivos de modelos de RI ou DM2. Entretanto, pouco se sabe ainda sobre os efeitos do exercício de força muscular sobre as respostas metabólicas e principalmente sobre as respostas neuronais e cognitivas em condições de resistência a insulina.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar os efeitos agudos do exercício de força muscular sobre a memória, respostas neuronais e *status* inflamatório de ratos resistentes à insulina.

2.2. Objetivos específicos

- I. Verificar se a resistência à insulina induzida por dieta é capaz de alterar a força muscular e a memória de curto e longo prazo em ratos *Wistar*;
- II. Investigar os efeitos agudos do exercício de força muscular na memória, nas repostas inflamatórias e neuronais de ratos *Wistar* resistentes à insulina.

3 EXPERIMENTO 1: EFEITOS DA RESISTÊNCIA À INSULINA SOBRE FORÇA MUSCULAR, MEMÓRIAS DE CURTO E LONGO PRAZO, STATUS INFLAMATÓRIO E BDNF EM RATOS WISTAR

3.1. Materiais e métodos

3.1.1. Cuidados éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA-UFMG, protocolo nº 199/2021) e realizado de acordo com as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA).

3.1.2. Amostra

A amostra foi composta por 18 ratos da linhagem *Wistar* (250 g) obtidos no Biotério Central da UFMG. Os ratos foram alocados em caixas coletivas (41 x 34 x 16 cm), sendo quatro animais por caixa, no biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício (Lafise) – EEEFTO sob um ciclo claro-escuro de 12/12 horas e temperatura controlada (24°C).

3.1.3. Delineamento experimental

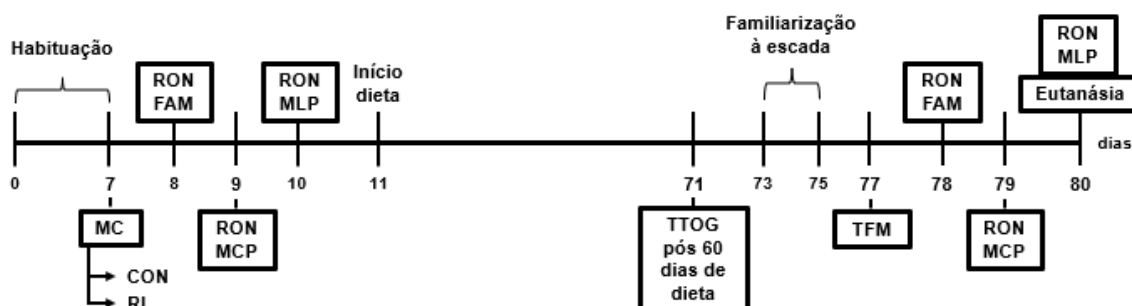
Após a chegada ao laboratório, os ratos permaneceram no biotério durante sete dias para a habituação ao ambiente. Finalizada a habituação, os ratos foram pesados em uma balança digital (FILIZOLA®; precisão de uma casa decimal) e divididos, de forma balanceada, em dois grupos: não resistentes à insulina (CON; n = 9) e resistentes à insulina (RI; n = 9). Feito o balanceamento, os ratos foram submetidos à tarefa de reconhecimento de objeto novo (RON) para a avaliação da memória de curto (MCP) e longo prazo (MLP) em três dias consecutivos (Bevins; Besheer, 2006), sendo o primeiro destinado à familiarização com a arena. A partir do dia seguinte à última tarefa, os ratos do grupo RI passaram pelo protocolo de indução de resistência à insulina por meio do consumo crônico de uma dieta hiperlipídica (48% de gordura) associada à ingestão de frutose dissolvida em água (solução 30%) (Melo *et al.*, 2021).

Em um estudo piloto, verificamos que 30 dias de dieta não foram suficientes para causar prejuízos à MCP e MLP de ratos RI, entretanto observamos

que 60 dias de dieta promoveram decréscimo na MLP (ANEXO I). Assim, os animais deste estudo consumiram a dieta hiperlipídica associada à ingestão de solução de frutose durante 60 dias. Ao final desse período foi realizado o teste de tolerância oral à glicose (TTOG).

Finalizado o período de 60 dias, os dois grupos (CON e RI) foram familiarizados à escada vertical durante três dias consecutivos (Cassilhas *et al.*, 2012a). Após o término da familiarização, os ratos foram submetidos ao teste de força máxima (TFM) em escada vertical para avaliação do desempenho físico (Neves *et al.*, 2016; Padilha *et al.*, 2019). Vinte e quatro horas após o TFM, os ratos foram submetidos novamente à tarefa de RON para investigarmos o efeito da resistência à insulina sobre a MCP e MLP (Figura 1).

Figura 1. Delineamento experimental: experimento 1



MC: Massa corporal; **CON:** Grupo não resistente à insulina; **RI:** Grupo resistente à insulina; **RON FAM:** Familiarização à arena da tarefa de reconhecimento de objeto novo; **RON MCP:** Tarefa de reconhecimento de objeto novo: memória de curto prazo; **RON MLP:** Tarefa de reconhecimento de objeto novo: memória de longo prazo; **TTOG:** Teste de tolerância oral à glicose; **TFM:** Teste de força máxima.

Fonte: elaboração própria.

3.1.4. Dieta hiperlipídica e solução de frutose

A dieta hiperlipídica foi fornecida ao grupo RI em forma de *pellets* com formato e textura similares à ração padrão (Presence[®]). Ela era composta por 78% da ração padrão moída e 22% de gordura saturada. Sendo assim, para cada 500g de ração, a dieta hiperlipídica era composta por 390g do farelo da ração padrão, 110g de gordura vegetal (PRIMOR[®]) e 40g de polvilho azedo (PACHA[®]) dissolvidos em 400 mL de água. Após a mistura, a massa foi colocada em formas de aço inox e assadas em forno elétrico à 180 °C por duas horas. A frutose (SYNTH[®]) foi dissolvida em água (solução 30%) e os ratos tiveram acesso *ad libitum* durante os 60 dias. O consumo de ração, a ingestão de frutose e a massa corporal dos ratos foram registradas durante toda a intervenção por meio de uma balança digital (Filizola[®]) (Melo *et al.*, 2021).

3.1.5. Tarefa de reconhecimento de objeto novo (RON)

A tarefa RON foi realizada em quatro etapas por três dias consecutivos. No primeiro dia foi realizada a primeira etapa: a familiarização à arena utilizada. Ela consistiu em posicionar os ratos no centro da caixa de formato quadrado (70 cm x 70 cm x 40 cm) para livre exploração durante cinco minutos.

No segundo dia ocorreram duas etapas. Na primeira, os ratos foram alocados novamente na arena com a presença de dois objetos idênticos (objeto A; figura 2) para a realização da sessão de treinamento. Para isso eles foram posicionados no ponto médio da parede da arena com o nariz apontado para o lado oposto aos dois objetos e tiveram 10 minutos para livre exploração (Bevins; Besheer, 2006; De Sousa *et al.*, 2020). Os dois objetos foram fixados no chão da arena com fita adesiva para evitar o deslocamento durante a atividade exploratória dos animais. Na segunda etapa, uma hora após a sessão de treinamento, os animais foram recolocados na arena para a sessão teste, utilizada para analisar a memória de curto prazo (MCP). Antes disso, um dos objetos foi trocado por um novo objeto (objeto B; figura 3) e logo após os animais foram posicionados na arena e tiveram cinco minutos de livre exploração.

No terceiro dia, foi realizada a quarta e última etapa para a análise da memória de longo prazo (MLP). Para isso, 24 horas após a sessão de treinamento,

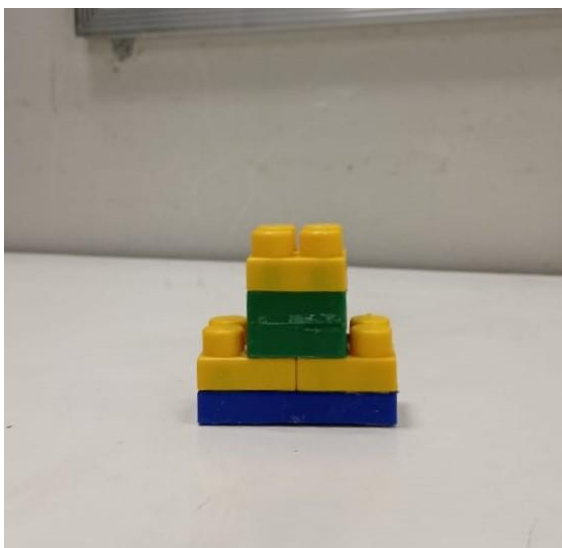
os ratos foram recolocados na arena na presença de dois objetos, sendo que o objeto B foi trocado por um novo (objeto C; figura 4), e os ratos tiveram cinco minutos de livre exploração (Capettini *et al.*, 2011; Crunfli *et al.*, 2018, 2019). Para eliminar os sinais olfativos, a arena e os objetos usados durante cada sessão foram higienizados, entre cada sessão, com etanol 70%.

Foi registrada a quantidade de tempo gasto explorando tanto o objeto familiar quanto o objeto novo para análise da MCP e MLP. Um rato do grupo RI explorou apenas um dos objetos na sessão de treinamento, portanto, foi excluído dos resultados (De Sousa *et al.*, 2020).

Figura 2. Objeto A



Fonte: Elaboração própria

Figura 3. Objeto B

Fonte: Elaboração própria

Figura 4. Objeto C

Fonte: Elaboração própria

3.1.6. Teste de tolerância oral à glicose

Para a realização do teste de tolerância oral à glicose (TTOG), os ratos permaneceram em jejum durante 6 horas. Ao final desse período, foi administrada, via gavagem oral, uma solução de D'Glicose ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de massa corporal, Synth[®]) dissolvida em água (solução à 40%). Foram obtidas amostras de sangue nos momentos pré e pós administração da solução de D'Glicose, nos intervalos de 15,

30, 60, 90 e 120 minutos, para a avaliação das concentrações de glicose. Estas foram verificadas por meio da coleta de uma gota de sangue, obtida por meio de um pequeno corte na região distal da cauda, utilizando um glicosímetro portátil (Accu-chek® Performa) (Melo *et al.*, 2021).

3.1.7. Familiarização à escada vertical

Os ratos foram familiarizados a uma escada vertical inclinada a 80° (110 cm altura X 18 cm largura, com 2 cm entre os degraus). Em seu topo estava localizada uma câmara de habitação que serviu de abrigo durante os períodos de descanso (Pereira *et al.*, 2010). O protocolo de familiarização à escada vertical consistiu em três ensaios por dia durante três dias. No primeiro ensaio, os ratos foram mantidos durante 60 segundos na câmara de habitação e depois foram colocados na escada à 35 cm do topo para que se deslocasse até a câmara de habitação. No segundo ensaio, os ratos foram colocados no meio da escada. No terceiro ensaio, os ratos foram colocados na parte inferior da escada (Cassilhas *et al.*, 2012a).

3.1.8. Teste de força máxima

Inicialmente, todos os ratos subiram a escada com uma carga, que foi presa à cauda com uma fita adesiva, correspondente a 75% de sua massa corporal. Após subir com sucesso com a carga inicial, foram adicionados 30g à carga. Esse processo foi repetido até que fosse alcançada uma carga com a qual o rato não conseguisse subir o comprimento completo da escada por três tentativas consecutivas. Foi considerada a força máxima (FM) do rato a carga da última escalada bem-sucedida (Neves *et al.*, 2016; Padilha *et al.*, 2019).

3.1.9. Eutanásia

Os ratos foram eutanasiados por meio de decapitação, sem sedação prévia, para a coleta de tecido adiposo epididimal, tecido adiposo mesentérico, tecido adiposo retroperitoneal, músculos gastrocnêmio, sóleo e extensor longo dos dedos (EDL) e cérebro (hipocampo).

3.1.10. Análise dos dados

3.1.10.1. Memória de curto e longo prazo

O comportamento exploratório (tempo total explorando cada objeto) foi analisado de duas formas. Na primeira, uma pesquisadora treinada registrou o tempo de exploração de cada objeto (familiar e novo), com dois cronômetros, um para cada objeto, toda vez que o nariz do animal estava em contato ou próximo ao objeto (menos de 1 cm) (De Sousa *et al.*, 2020). Na segunda, a exploração foi analisada por meio de um *software* (ANY-MAZE Video Tracking System 7.16; STOELTING CO.®, 2022). Para isso, foram delimitadas na arena as áreas de localização dos objetos novo e familiar (aproximadamente 700 cm²) em todas as etapas. Feito isso, era iniciada a análise no *software* que registrou o tempo de exploração de cada objeto, considerando exploração toda vez que a cabeça do animal estava em contato ao objeto. Foi realizado um teste T de *Student* para comparar os valores registrados pela pesquisadora e pelo *software* e não foi verificada diferença estatística entre as análises ($p > 0,05$).

O índice de discriminação foi calculado por meio da equação $TN/(TN + TF)$ em que TN é o tempo gasto explorando o objeto novo e TF é o tempo gasto explorando o objeto familiar (Rojas *et al.*, 2013). O valor do índice de discriminação pode variar de 0 a 1. (Fonseca *et al.*, 2013).

3.1.10.2. Composição corporal

A avaliação da composição corporal se deu por meio da análise da massa muscular e do índice de adiposidade dos ratos. A massa muscular foi avaliada por meio da pesagem individual dos tecidos dos músculos gastrocnêmio, sóleo e extensor longo dos dedos (EDL) em balança (SHIMADZU® Modelo BL320H; precisão de 0,001g). Para determinação do índice de adiposidade (IA), os tecidos adiposos retroperitoneal (TAR), mesentérico (TAM) e epididimal (TAE) foram pesados em balança (SHIMADZU® Modelo BL320H; precisão de 0,001g) e foi feita a seguinte equação (Lacerda *et al.*, 2015):

$$IA = \left(\frac{TAR + TAM + TAE}{\text{Massa corporal}} \right) \times 100$$

3.1.10.3. Citocinas pró e anti-inflamatórias

As citocinas Interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), interleucina 1 Beta (IL-1 β) e o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) foram quantificadas nos tecidos dos músculos gastrocnêmio e sóleo e hipocampo por ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Para as análises teciduais foi realizado um protocolo de homogeneização no qual 100 mg de tecido foram homogeneizados com 1 mL de solução de extração de citocinas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C, retirado o infranadante que foi congelado a -20°C para posterior análise por ELISA.

3.1.10.4. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

As concentrações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo foram analisadas por meio do método ELISA (ELISA; Human/Mouse BDNF DuoSet kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Para as análises teciduais foi realizado um protocolo de homogeneização no qual 80 mg de tecido foram homogeneizados com 0,8 mL de solução de extração de citocinas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C, retirado o infranadante que foi congelado a -20°C para posterior análise por ELISA.

3.1.11. Análise estatística

Os dados estão apresentados em média \pm desvio padrão (DP). A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelo teste de Shapiro-wilk e Brown-Forsythe, respectivamente. Foi utilizado o teste T de *Student* para comparar entre os grupos RI e CON a quantidade de ração e bebidas consumidas, bem como a quantidade de calorias totais ingeridas pelos animais. Além disso, utilizou-se também o teste T de *Student* para comparar a variação (delta) da massa corporal, o índice de adiposidade, a área sob a curva (AUC) da glicemia em resposta ao TTOG, a força máxima e as concentrações de citocinas e BDNF entre os grupos RI e CON.

Para analisar a variação na massa corporal ao longo dos 60 dias, o TTOG pós-60 dias e a memória de curto e longo prazo pré e pós-60 dias, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) com duas fontes de variação (*two-way*) com medidas

repetidas no tempo, levando em conta os fatores grupo (CON vs. RI) e tempo. Quando encontradas interações significativas nas ANOVAs foi realizado o teste *post hoc* de *Tukey* para comparar as diferenças entre os pares (Sampaio, 2007). Todas as análises foram realizadas no *software* SigmaPlot 14.5 (SYSTAT SOFTWARE, USA) adotando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.2. Resultados

3.2.1. Consumo de dieta

Os resultados demonstram que a quantidade de ração e água/frutose ingerida diariamente não foi diferente entre os dois grupos ao longo dos 60 dias de dieta ($p = 0,196$; $p = 0,206$). Entretanto, analisada a quantidade diária de quilocalorias ingeridas, foi observado que o grupo RI consumiu mais quilocalorias diariamente quando comparado ao grupo CON ($p < 0,001$) (tabela 1).

Tabela 1. Consumo de dieta

	CON	RI	Teste t
Ingestão de ração (g/dia)	18,03 ± 4,76	15,53 ± 5,87	$p = 0,196$
Ingestão de bebida (mL/dia)	29,87 ± 6,63	26,66 ± 7,36	$p = 0,206$
Calorias (kcal/dia)	79,73 ± 21,07	126,38 ± 43,43 ^{###}	$p < 0,001$

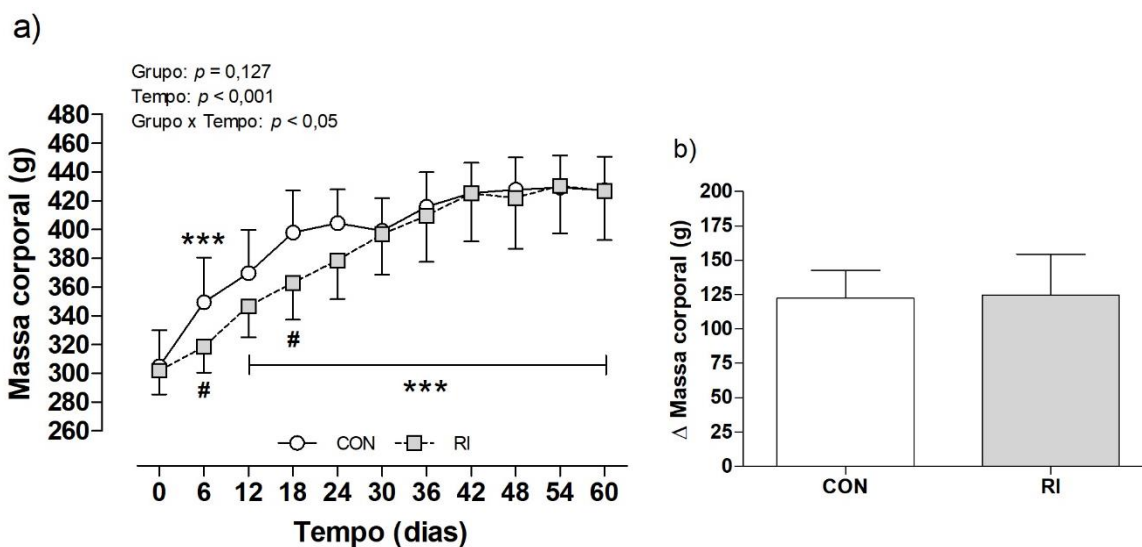
CON: Grupo controle; **RI:** Grupo resistente à insulina. Média ± DP. **###** Diferença entre os grupos ($p < 0,001$). CON = 9; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

3.2.2. Massa Corporal

Ao longo dos 60 dias de dieta, os dois grupos apresentaram aumento da massa corporal, sendo significativamente maior a partir do 12^o dia, quando comparado ao momento zero ($p < 0,001$). Além disso, foi observado que, a partir do 36^o dia, não houve aumento significativo da massa corporal, mantendo um valor estável até o último dia de dieta ($p > 0,05$) (Figura 5a). Quando analisado o delta da massa corporal, entre os dias zero e 60, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos CON e RI ($122,42 \pm 20,32$ vs. $124,85 \pm 29,54$ g; $p = 0,861$) (Figura 5b).

Figura 5. Massa corporal ao longo do tempo e delta após 60 dias de dieta



Média \pm DP. *** Diferença em relação ao momento 0 ($p < 0,001$); # Diferença entre os grupos ($p < 0,05$). CON = 7; RI = 9.

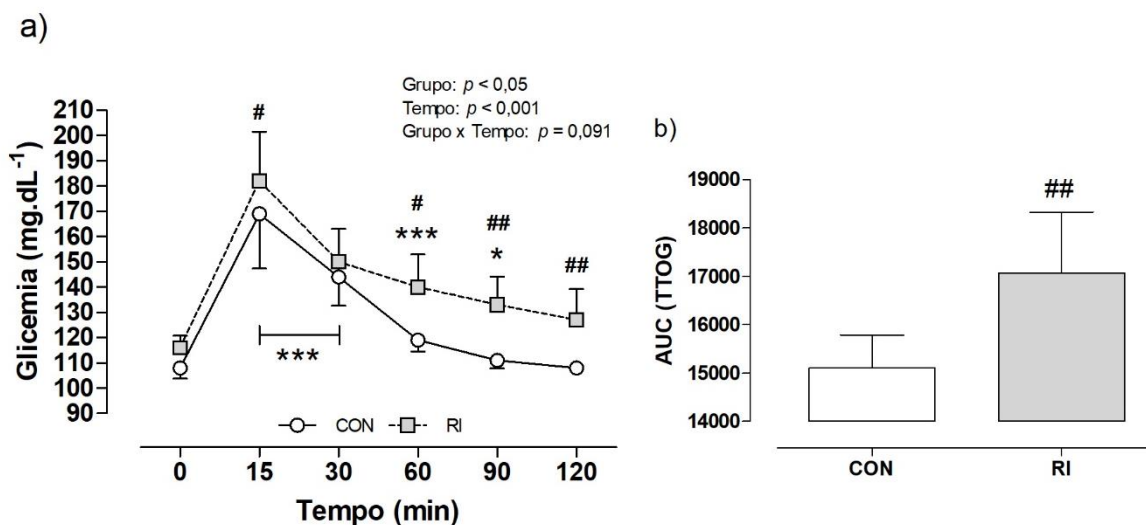
Fonte: Elaboração própria.

3.2.3. Teste de tolerância oral à glicose (TTOG)

Os resultados do TTOG após 60 dias de dieta nos permitem observar que o grupo CON apresentou valores de glicemia significativamente maiores nos momentos 15 e 30, quando comparados ao momento zero ($169 \pm 21,57$; $144 \pm 11,32$ vs. $108 \pm 4,07$ mg.dL⁻¹; $p < 0,001$), retornando ao valor basal no momento 60 ($119 \pm 4,40$ vs. $108 \pm 4,07$ mg.dL⁻¹; $p = 0,269$). Já o grupo RI apresentou valores de glicemia significativamente maiores nos momentos 15, 30 e 60 quando comparados ao momento zero ($182 \pm 19,53$; $150 \pm 13,20$; $140 \pm 12,94$ vs. $116 \pm 4,79$ mg.dL⁻¹; $p < 0,001$). Esse aumento se manteve até o momento 90 ($133 \pm 11,21$ vs. $116 \pm 4,79$ mg.dL⁻¹; $p < 0,05$), retornando ao valor basal apenas no momento 120 ($127 \pm 12,24$ vs. $116 \pm 4,79$ mg.dL⁻¹; $p = 0,195$).

Quando comparados os dois grupos (CON vs. RI), foi observada uma diferença significativa nos momentos 15, 60, 90 e 120 (Figura 6a). Além disso, o grupo RI apresentou uma área sob a curva (AUC) significativamente maior quando comparado ao grupo CON ($17.060 \pm 1.271,84$ vs. $15.105 \pm 685,70$ mg.dL⁻¹; $p < 0,01$) (Figura 6b).

Figura 6. Teste de tolerância oral à glicose (TTOG) 60 dias após início da dieta



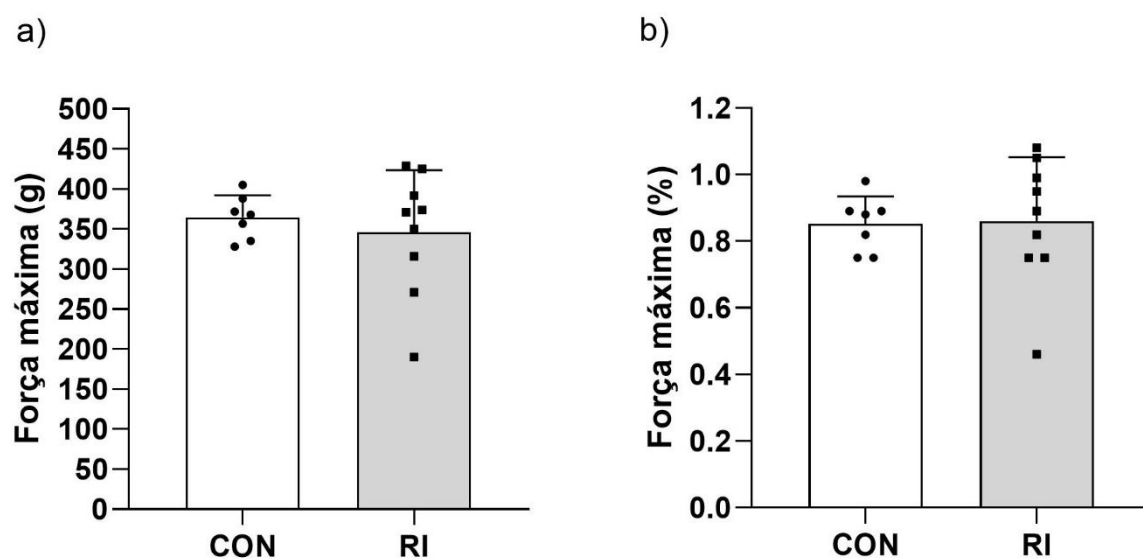
Média \pm DP. * Diferença significativa em relação ao momento 0 ($p < 0,05$); *** Diferença significativa em relação ao momento 0 ($p < 0,001$); # Diferença entre os grupos ($p < 0,05$); ## Diferença entre os grupos ($p < 0,01$). CON = 7; RI = 7.

Fonte: Elaboração própria.

3.2.4. Desempenho de força máxima

A partir da observação dos resultados do teste de força máxima foi possível perceber que não houve diferença significativa entre os grupos CON e RI nas variáveis de força máxima absoluta ($365 \pm 27,45$ vs. $346 \pm 77,08$ g; $p = 0,562$) (Figura 7a) e força máxima relativa à massa corporal ($0,85 \pm 0,08$ vs. $0,86 \pm 0,19$ %; $p = 0,914$) (Figura 7b).

Figura 7. Desempenho de força máxima

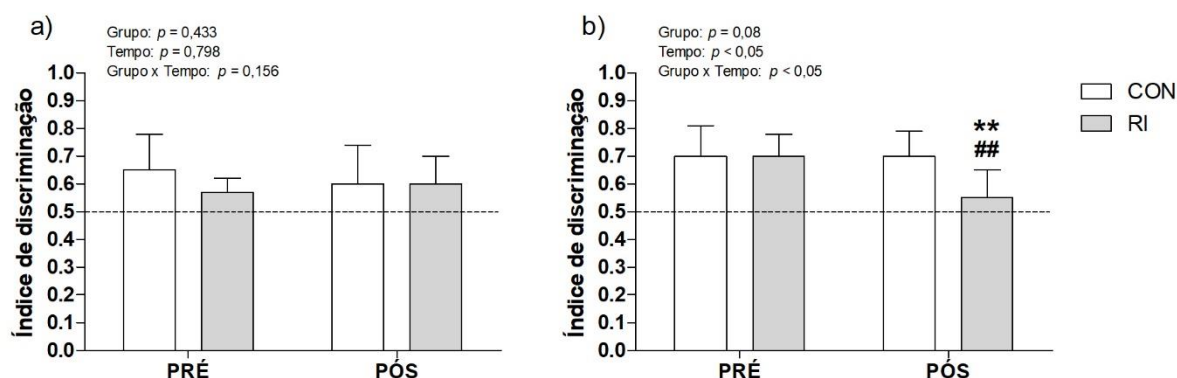


Média \pm DP. CON = 7; RI = 9.
 Fonte: Elaboração própria.

3.2.5. Memória de curto e longo prazo

As memórias de curto e longo prazo foram avaliadas nos momentos pré e pós 60 dias de dieta. Os resultados da tarefa RON nos permitiu verificar que não houve diferença significativa estatisticamente na MCP tanto no fator tempo ($p = 0,798$) quanto no fator grupo ($p = 0,433$) (Figura 8a). Quando analisada a MLP, foi possível observar que houve uma queda no índice de discriminação no grupo RI quando comparados os momentos pré e pós ($0,70 \pm 0,08$ vs. $0,55 \pm 0,11$; $p < 0,01$). Além disso, quando comparados os grupos CON e RI no momento pós, foi possível verificar diferença estatística entre eles ($0,70 \pm 0,09$ vs. $0,55 \pm 0,11$; $p < 0,01$) (Figura 8b).

Figura 8. Memória de curto e longo prazo pré e pós 60 dias de dieta



Média \pm DP. ** Diferença significativa em relação ao momento pré ($p < 0,01$); ## Diferença entre os grupos no momento pós ($p < 0,01$). CON = 9; RI = 8.
 Fonte: Elaboração própria.

3.2.6. Composição corporal

Quando analisada a massa dos músculos, foi observado que o grupo RI apresentou uma massa significativamente menor dos músculos gastrocnêmio e sóleo quando comparado ao grupo CON ($p < 0,001$). Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos na massa do extensor longo dos dedos (EDL) ($p = 0,276$). Quando analisado o índice de adiposidade, foi observado que o grupo RI apresentou um índice significativamente maior, quando comparado ao grupo CON ($p < 0,05$) (tabela 2).

Tabela 2. Composição corporal

	CON	RI	Teste t
Gastrocnêmio (g)	2,444 ± 0,15	1,984 ± 0,23 ^{###}	p < 0,001
Sóleo (g)	0,160 ± 0,01	0,120 ± 0,01 ^{###}	p < 0,001
EDL (g)	0,168 ± 0,02	0,155 ± 0,02	p = 0,276
Índice de adiposidade (%)	4,06 ± 0,73	5,23 ± 1,05 [#]	p < 0,05

CON: grupo não resistente à insulina; **RI:** grupo resistente à insulina; **EDL:** extensor longo dos dedos. Média ± DP. **##** Diferença entre os grupos no momento pós (p < 0,01); **###** Diferença entre os grupos no momento pós (p < 0,001); CON = 9; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

3.2.7. Citocinas pró e anti-inflamatórias

As citocinas foram analisadas nos músculos gastrocnêmio e sóleo e no hipocampo. Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos nas citocinas pró (IL-6) e anti-inflamatória (IL-10) no músculo gastrocnêmio (p = 0,452; p = 0,465, respectivamente), entretanto, quando analisada a razão IL-6/IL-10 o grupo RI apresentou uma média significativamente maior (p = 0,01), o que expõe um *status* mais pró-inflamatório neste músculo (tabela 3). No músculo sóleo o cenário foi diferente, não foi verificada diferença estatística entre os grupos nas concentrações de IL-6 e na razão IL-6/IL-10 (p = 0,232; p = 0,088, respectivamente), porém as concentrações de IL-10 no grupo RI foram significativamente maiores (p < 0,05) (tabela 4). Não foram verificadas diferenças estatísticas entre os grupos em nenhuma das citocinas pró (IL-6, IL-1β e TNF-α) e anti-inflamatória (IL-10) no hipocampo (tabela 5).

Tabela 3. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: gastrocnêmio

Citocina (pg.mL ⁻¹)	CON	RI	Teste t
IL-6	199,6 ± 53,8	219,8 ± 52,1	p = 0,452
IL-10	37,8 ± 9,5	34,4 ± 8,7	p = 0,465
IL-6/IL-10	5,2 ± 0,6	6,0 ± 0,3 ^{##}	p < 0,01

CON: Grupo não resistente à insulina; **RI:** Grupo resistente à insulina; **IL-6:** Interleucina 6; **IL-10:** Interleucina 10; **IL-6/IL-10:** Razão IL-6/IL-10. Média ± DP. **##** Diferença entre os grupos (p < 0,01). CON = 7; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 4. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: sóleo

Citocina (pg.mL ⁻¹)	CON	RI	Teste t
IL-6	288,5 ± 43,0	332,5 ± 86,2	p = 0,232
IL-10	10,9 ± 1,8	15,0 ± 3,9 [#]	p < 0,05
IL-6/IL-10	27,2 ± 6,9	21,8 ± 3,4	p = 0,088

CON: Grupo não resistente à insulina; **RI:** Grupo resistente à insulina; **IL-6:** Interleucina 6; **IL-10:** Interleucina 10; **IL-6/IL-10:** Razão IL-6/IL-10. Média ± DP. **#** Diferença entre os grupos (p < 0,05). CON = 7; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 5. Citocinas pró e anti-inflamatórias após 60 dias de dieta: hipocampo

Citocina (pg.mL ⁻¹)	CON	RI	Teste t
IL-6	547,5 ± 51,5	503,1 ± 58,7	$p = 0,122$
IL-10	14,5 ± 3,5	14,8 ± 3,9	$p = 0,889$
IL-6/IL-10	40,2 ± 8,4	35,8 ± 9,0	$p = 0,328$
IL-1 β	433,0 ± 58,4	439,7 ± 71,2	$p = 0,841$
TNF- α	2.362,2 ± 325,5	2.391,1 ± 397,7	$p = 0,872$

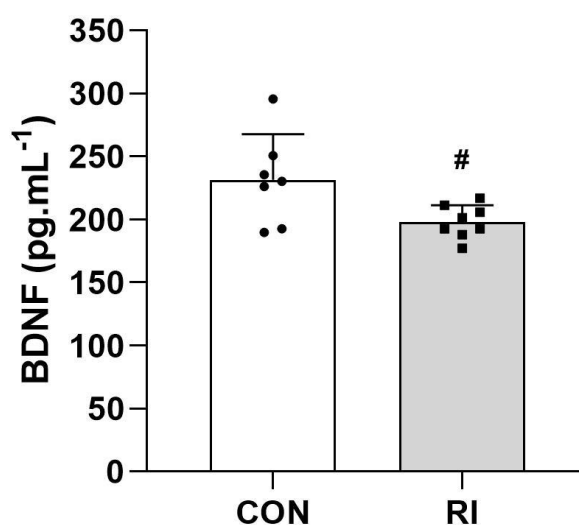
CON: Grupo não resistente à insulina; **RI:** Grupo resistente à insulina; **IL-6:** Interleucina 6; **IL-10:** Interleucina 10; **IL-6/IL-10:** Razão IL-6/IL-10; **IL-1 β :** Interleucina 1 Beta; **TNF- α :** Fator de necrose tumoral alfa. Média ± DP. CON = 7; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

3.2.8. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

A concentração de BDNF foi analisada no hipocampo. Foi verificada diferença estatística entre os grupos CON e RI (231,53 ± 36,04 vs. 198,52 ± 15,74 pg.mL⁻¹; $p < 0,05$), sendo menor no grupo RI (Figura 9).

Figura 9. Concentração de BDNF no hipocampo



Diferença entre os grupos ($p < 0,05$); Média ± DP. CON = 7; RI = 9.

Fonte: Elaboração própria.

3.3. Discussão

A resistência à insulina levou a uma redução na memória de longo prazo, acompanhada da redução na concentração de BDNF no hipocampo de ratos Wistar. Não foi, entretanto, observada mudança no perfil inflamatório no hipocampo destes animais. Houve uma redução da massa muscular e aumento no índice de

adiposidade dos ratos do grupo RI, indicando uma mudança de composição corporal nestes animais, sem, entretanto, trazer aumentos na massa corporal total neste grupo, quando comparado ao grupo controle. Cabe salientar que, apesar das mudanças observadas na composição corporal, não houve diferença na força muscular entre os grupos.

O quadro de resistência à insulina do grupo RI não afetou a memória de curto prazo, entretanto causou prejuízos na memória de longo prazo. Em sua revisão, Sharma (2021) coloca, a partir de estudos anteriores, que estresse oxidativo, neuroinflamação, resistência à insulina, ruptura da barreira hemato-encefálica (BHE), desregulação transcricional (CREB, BDNF) e prejuízos no fluxo sanguíneo cerebral estão entre os fatores mais importantes subjacentes ao declínio cognitivo em um quadro de resistência à insulina. No presente estudo foram analisados marcadores pró e anti-inflamatórios e a concentração de BDNF no hipocampo.

Neste trabalho não foi identificada mudança no *status* inflamatório no hipocampo do grupo RI. Entretanto, estudos anteriores relataram a presença de neuroinflamação em roedores resistentes à insulina (Boitard *et al.*, 2014; Cavaliere *et al.*, 2019; Jeon *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014; Yu *et al.*, 2019). No presente estudo não foram identificados aumentos de IL-6, IL-1 β e TNF- α no hipocampo de ratos RI, portanto, possivelmente, a redução da memória de longo prazo encontrada nesses animais pode estar relacionada a outros parâmetros, incluindo a redução na concentração de BDNF.

Neste experimento foi investigada a concentração de BDNF no hipocampo dos animais e foi observada uma redução no grupo RI. Esse achado vai ao encontro da literatura, tendo em vista que estudos anteriores também verificaram uma queda dessa neurotrofina no cérebro de roedores resistentes à insulina (Cavaliere *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2010). O BDNF faz parte da família das neurotrofinas que desempenham um papel vital na regulação da sobrevivência, crescimento e diferenciação dos sistemas nervosos periférico e central (Sharma *et al.*, 2021). Além disso, já está bem consolidado que o BDNF é crítico para a neuroplasticidade dependente de atividade (Egan *et al.*, 2003) e desempenha um papel fundamental na aprendizagem e na memória (Leal *et al.*, 2015).

Apesar de ainda não estar claro na literatura como o quadro de resistência à insulina resulta na redução das concentrações de BDNF, sua sinalização é uma

possível via de resposta. O BDNF se liga ao seu receptor tirosina quinase B (TrkB) e ativa diferentes vias que convergem para a proteína de ligação ao elemento de resposta do monofosfato de adenosina cíclica (cAMP) do fator de transcrição CREB, que pode regular positivamente os genes relacionados à sobrevivência, crescimento e diferenciação celular (Koponen; Lakso; Castrén, 2004; Sharma *et al.*, 2013). A fosforilação de CREB é regulada tanto pelo BDNF (Finkbeiner, 2000) quanto por componentes de sinalização da insulina (Brami-Cherrier *et al.*, 2002; Duont; Montminy, 1998; Klemm *et al.*, 1998) e, quando ativado, atua na regulação da expressão de proteínas associadas ao aprendizado e à memória (Barcoari; Marie, 2011; Benitoar; Barco, 2010). A literatura mostra que o quadro de resistência à insulina está associado à atividade reduzida de CREB no cérebro (Lu *et al.*, 2011; Xia *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2019). Sendo assim, mesmo não sendo analisado no presente estudo, talvez uma possível justificativa para a redução da concentração de BDNF e consequente déficits na memória, observados no grupo RI, seja a atividade reduzida de CREB.

A composição corporal foi diferente no grupo RI, apresentando um aumento do índice de adiposidade e uma queda da massa muscular. Melo *et al.* 2021 observaram que o grupo que foi submetido a mesma intervenção dietética do presente trabalho, entretanto por 30 dias, também apresentou um maior índice de adiposidade quando comparado ao grupo controle. Além disso, os autores verificaram a hipertrofia dos adipócitos do grupo RI. Este aumento do volume de adipócitos tem sido associado à síntese e secreção de citocinas inflamatórias que causam inflamação de baixo grau, que está associada à deficiência na sinalização de insulina e resistência à insulina (Gao *et al.*, 2014; Heilbronn; Campbell, 2008; Lumeng; Saltiel, 2011).

Em um quadro de resistência à insulina, esta tem dificuldade de ligar ao seu receptor, prejudicando a ativação da via da PI3K-Akt-mTORC1 e levando à redução da síntese proteica (Liu *et al.*, 2023). A redução da ativação dessa via prejudica também a inibição de FoxO, aumentando então a degradação proteica (Ebert *et al.*, 2012). Além disso, FoxO1 pode inibir os níveis de mTORC, podendo causar diretamente o enfraquecimento muscular (Kamei *et al.*, 2004; Sandri *et al.*, 2004). Ademais, no cenário de RI ocorre o aumento da autofagia em células musculoesqueléticas. A ativação de mTORC1 em humanos fosforila diretamente as

quinases ULK1 (unc-51 quinase ativadora de autofagia) e ATG13 (proteína 13 relacionada à autofagia), resultando na sua inativação e, assim, atenuando os níveis de autofagia. Como no quadro de RI a ativação de mTORC1 é prejudicada, os níveis de autofagia são aumentados, levando a uma maior perda muscular (Liu *et al.*, 2023).

Foi observada uma redução da massa muscular nos músculos gastrocnêmio e sóleo do grupo RI, entretanto não ocorreu o mesmo com o extensor longo dos dedos (EDL). Esses músculos são compostos, principalmente, por fibras glicolíticas-oxidativas rápidas (65%), fibras oxidativas lentas (87%) e fibras glicolíticas rápidas (56%), respectivamente (Armstrong; Phelps, 1984). Holmström *et al.* (2012) observaram uma capacidade respiratória aumentada no músculo esquelético glicolítico de camundongos resistentes à insulina devido a um aumento na biogênese mitocondrial. Apesar da contradição desse achado, a elevação aguda na circulação de ácidos graxos livres está correlacionada ao aumento da biogênese mitocondrial no músculo glicolítico, possivelmente devido ao aumento da disponibilidade de lipídios (Garcia-Roves *et al.*, 2007; Holloway *et al.*, 2009). Ainda que neste trabalho não tenham sido analisadas a capacidade respiratória muscular e a função mitocondrial dos músculos oxidativos e glicolíticos, os resultados dos estudos de Garcia-Roves *et al.* (2007) e Holloway *et al.* (2009) podem indicar um possível caminho para a explicação da conservação da massa do músculo EDL no grupo RI após 60 dias de dieta.

Apesar da redução das massas dos músculos gastrocnêmio e sóleo e da inflamação do gastrocnêmio no grupo RI, este não apresentou queda na força máxima. A comparação destes resultados com a literatura fica comprometida, uma vez que parecem não existir estudos anteriores que tenham avaliado a força muscular utilizando este protocolo de força máxima em animais RI, induzida ou não por meio de HFD. Kemmochi *et al.* (2018) e Martinez-Huenchullan *et al.* (2017) avaliaram a força muscular de camundongos RI e ratos diabéticos, respectivamente, por meio de três protocolos (*grip strength*, *four-limb hanging test* e *hang wire*) e observaram queda significativa na força muscular quando comparado ao grupo controle.

No presente estudo, embora o grupo RI tenha apresentado redução da massa dos músculos gastrocnêmio e sóleo, o mesmo não ocorreu com o EDL, que teve sua

massa conservada. Tendo em vista que esse é um músculo predominantemente glicolítico (Armstrong & Phelps, 1984) e que a capacidade de força máxima demanda principalmente da via glicolítica, talvez o desempenho de força não tenha sido prejudicado devido a manutenção desse músculo após a indução de RI.

A resistência à insulina promoveu descréscimo na MLP e promoveu a redução de BDNF no hipocampo. Sabendo que a redução de BDNF está relacionada à redução da neurogênese e piora da aprendizagem e da memória, esta pode ser uma das vias de explicação para o prejuízo causado na MLP, em ratos resistentes à insulina, no presente estudo.

3.4. Conclusão

O quadro de resistência à insulina, induzido por dieta, provocou prejuízos na memória de longo prazo de ratos *Wistar* e promoveu a redução da concentração de BDNF na região do hipocampo. Além disso, esse quadro levou ao aumento do *status* pró-inflamatório no músculo gastrocnêmio.

4 EXPERIMENTO 2: EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE FORÇA MUSCULAR SOBRE A MEMÓRIA DE LONGO PRAZO, STATUS INFLAMATÓRIO E BDNF EM RATOS RESISTENTES À INSULINA

4.1. Materiais e métodos

4.1.1. Cuidados éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA-UFMG, protocolo nº 200/2021) e realizado de acordo com as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA).

4.1.2. Amostra

A amostra foi composta por 18 ratos da linhagem Wistar (250 g) obtidos no Biotério Central da UFMG. Os ratos foram alocados em caixas coletivas (41 x 34 x 16 cm³), sendo quatro animais por caixa, no biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício (Lafise) – EEFETO sob um ciclo claro-escuro de 12/12 horas e temperatura controlada (24°C).

4.1.3. Delineamento experimental

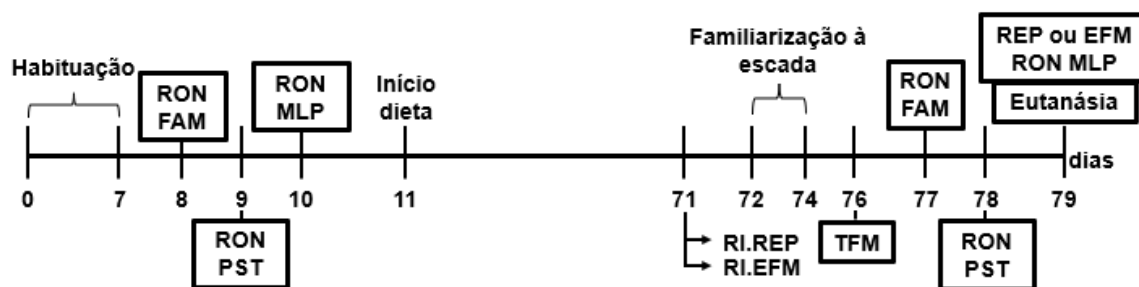
Após a chegada ao laboratório, os ratos permaneceram no biotério durante sete dias para a habituação ao ambiente. Finalizada a habituação, os ratos foram submetidos à tarefa RON para a avaliação da memória de longo prazo (MLP) em três dias consecutivos (Bevins; Besheer, 2006), sendo o primeiro de familiarização com a arena. A partir do dia seguinte ao último teste, todos os ratos passaram pelo protocolo de indução de resistência à insulina por meio do consumo crônico de dieta hiperlipídica associada à ingestão de frutose dissolvida em água (solução 30%) (Melo *et al.*, 2021). O consumo dessa dieta se deu pelo período de 60 dias.

Finalizado esse período, os ratos foram divididos, de forma aleatorizada, em dois grupos: resistentes à insulina + situação repouso (RI.REP; n = 9) e resistentes à insulina + situação exercício (RI.EFM; n = 9). Após a divisão, o grupo RI.EFM foi familiarizado à escada vertical durante três dias consecutivos (Cassilhas *et al.*, 2012a). Após o término da familiarização, os ratos foram submetidos ao teste de força máxima (TFM) em escada vertical para determinação da carga da sessão de exercício (Neves *et al.*, 2016; Padilha *et al.*, 2019). Vinte e quatro horas após o TFM, os dois grupos foram submetidos novamente à tarefa RON, sendo realizada em três dias seguidos.

No primeiro dia, foi realizada a familiarização à arena. No segundo dia, foram realizadas a segunda e terceira etapas, utilizadas para a sessão de treinamento e primeira sessão teste, respectivamente. Um dia após a terceira etapa, foi realizada a sessão experimental de acordo com os seus respectivos grupos (repouso ou exercício) e, logo após, a sessão de teste de MLP (Figura 10).

O exercício de força muscular foi realizado no período da manhã (entre 7:00 e 9:00), por meio de um protocolo de carga progressiva (50-100% da força máxima) totalizando 8 séries (subidas completas na escada), tendo a sessão uma duração total de 20 minutos. Já os animais alocados no grupo RI.REP permaneceram em repouso pelo mesmo período de tempo. Imediatamente após a sessão aguda, os ratos foram submetidos à quarta etapa da tarefa RON, destinada à avaliação da MLP (duração de 5 minutos), verificando os possíveis efeitos agudos do exercícios de força muscular sobre essa variável. Trinta minutos após a sessão aguda (REP ou EFM), os ratos foram eutanasiados por meio de decapitação sem sedação prévia para a coleta de sangue e tecidos (Figura 11).

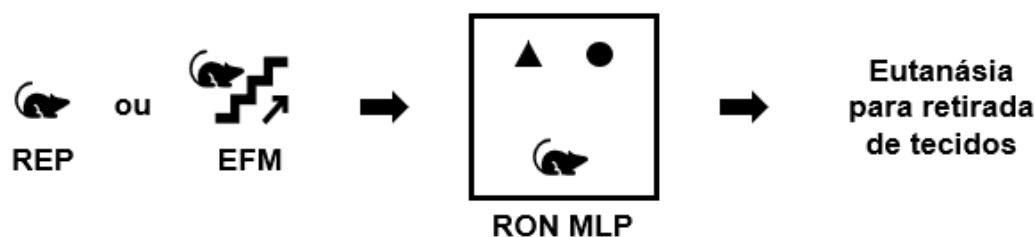
Figura 10. Delineamento experimental: experimento 2



RON FAM: Familiarização à arena da tarefa de reconhecimento de objeto novo; **RON PST:** Tarefa de reconhecimento de objeto novo: primeira sessão teste; **RON MLP:** Tarefa de reconhecimento de objeto novo: memória de longo prazo; **RI.REP:** Grupo resistente à insulina + situação repouso; **RI.EFM:** Grupo resistente à insulina + situação exercício; **TFM:** Teste de força máxima; **REP:** Sessão de repouso; **EFM:** Sessão de exercício de força muscular.

Fonte: Elaboração própria.

Figura 11. Sessão experimental: repouso ou exercício de força muscular



REP: Sessão repouso; **EFM:** Sessão de exercício de força muscular; **RON MLP:** Tarefa de reconhecimento de objeto novo: memória de longo prazo.

Fonte: Elaboração própria.

4.1.4. Dieta hiperlipídica e solução de frutose

A dieta hiperlipídica foi fornecida ao grupo RI em forma de *pellets* com formato e textura similares à ração padrão (Presence®). Ela era composta por 78% da ração padrão moída e 22% de gordura saturada. Sendo assim, para cada 500g de ração, a dieta hiperlipídica era composta por 390g do farelo da ração padrão, 110g de gordura vegetal (PRIMOR®) e 40g de polvilho azedo (PACHA®) dissolvidos em 400 mL de água. Após a mistura, a massa foi colocada em formas de aço inox e assadas em forno elétrico à 180 °C por duas horas. A frutose (SYNTH®) foi dissolvida em água (solução 30%) e os ratos tiveram acesso *ad libitum* durante os 60 dias. O consumo de ração, a ingestão de frutose e a massa corporal dos ratos foram registradas durante toda a intervenção por meio de uma balança digital (Filizola®) (Melo *et al.*, 2021).

4.1.5. Tarefa de reconhecimento de objeto novo (RON)

A tarefa RON foi realizada em quatro etapas por três dias consecutivos. No primeiro dia foi realizada a primeira etapa: a familiarização à arena. Ela consistiu em posicionar os ratos no centro da caixa de formato quadrado (70 cm x 70 cm x 40 cm) para livre exploração durante cinco minutos.

No segundo dia ocorreram duas etapas. Na primeira, os ratos foram alocados novamente na arena com a presença de dois objetos idênticos (objeto A; figura 2) para a realização da sessão de treinamento. Para isso eles foram posicionados no ponto médio da parede da arena com o nariz apontado para o lado oposto dos dois objetos e tiveram 10 minutos para livre exploração (Bevins; Besheer, 2006; De Sousa *et al.*, 2020). Os dois objetos foram fixados no chão da arena com fita adesiva para evitar o deslocamento durante a atividade exploratória dos animais. Na segunda etapa, uma hora após a sessão de treinamento, os animais foram recolocados na arena para a primeira sessão de teste. Antes disso, um dos objetos foi trocado por um novo objeto (objeto B; figura 3) e logo após os animais foram posicionados na arena e tiveram cinco minutos de livre exploração.

No terceiro dia foi realizada a quarta e última etapa para a análise da memória de longo prazo (MLP). Para isso, 24 horas após a última sessão de teste, os ratos foram recolocados na arena na presença de dois objetos, sendo que o objeto B foi trocado por um novo (objeto C; figura 4), e tiveram cinco minutos de livre exploração (Capettini *et al.*, 2011; Crunfli *et al.*, 2018; 2019). Para eliminar os sinais olfativos, a arena e os objetos usados durante cada sessão foram limpos entre as tentativas com etanol 70%.

Foi registrada a quantidade de tempo gasto explorando tanto o objeto familiar quanto o objeto novo para análise da MCP e MLP. Um rato do grupo RI.REP explorou apenas um dos objetos na sessão de treinamento, portanto foi excluído dos resultados (De Sousa *et al.*, 2020).

4.1.6. Familiarização à escada vertical

Os ratos do grupo RI.EFM foram familiarizados a uma escada vertical inclinada a 80° (110 cm altura X 18 cm largura, com 2 cm entre os degraus), na qual foi realizada o EFM. Em seu topo estava localizada uma câmara de habitação que

serviu de abrigo durante os períodos de descanso (Pereira *et al.*, 2010). O protocolo de familiarização à escada vertical consistiu em três ensaios por dia durante três dias. No primeiro ensaio, os ratos foram mantidos durante 60 segundos na câmara de habitação e depois foram colocados na escada a 35 cm do topo. No segundo ensaio, os ratos foram colocados no meio da escada. No terceiro ensaio, os ratos foram colocados na parte inferior da escada (Cassilhas *et al.*, 2012a).

4.1.7. Teste de força máxima

Após a familiarização, os ratos do grupo RI.EFM foram submetidos ao teste de força máxima (TFM). Inicialmente, todos os ratos subiram a escada com uma carga, que foi presa à cauda com uma fita adesiva, correspondente a 75% de sua massa corporal. Após subir com sucesso com a carga inicial foram adicionados 30g à carga. Esse processo foi repetido até que fosse alcançada uma carga com a qual o rato não conseguisse subir o comprimento completo da escada por três tentativas consecutivas. Foi considerada a força máxima (FM) do rato a carga da última escalada bem-sucedida (Neves *et al.*, 2016; Padilha *et al.*, 2019).

4.1.8. Exercício de força muscular

Os ratos do grupo RI.EFM foram submetidos ao exercício de força muscular agudo. A sessão consistiu em oito subidas na escada com um intervalo de 60 segundos entre elas. A carga teve aumento progressivo ao longo da sessão, conforme a tabela 6 (adaptado de Cassilhas *et al.*, 2012b).

Tabela 6. Protocolo de exercício agudo de força muscular

Subida	Carga (% da FM)	Intervalo de descanso (s)
1 ^a	50	60
2 ^a	50	60
3 ^a	75	60
4 ^a	75	60
5 ^a	90	60
6 ^a	90	60
7 ^a	100	60
8 ^a	100	60

Fonte: adaptado de Cassilhas *et al.*, 2012b

4.1.9. Eutanásia

Os ratos foram eutanasiados por meio de decapitação, sem sedação prévia, para a coleta dos músculos gastrocnêmio e sóleo e cérebro (hipocampo).

4.1.10. Análise dos dados

4.1.10.1. Memória longo prazo

O comportamento exploratório (tempo total explorando cada objeto) foi analisado de duas formas. Na primeira, uma pesquisadora treinada registrou o tempo de exploração de cada objeto (familiar e novo), com dois cronômetros, toda vez que o nariz do animal estava em contato ou próximo ao objeto (menos de 1 cm) (DE SOUSA *et al.*, 2020). Na segunda, a exploração foi analisada por meio de um *software* (ANY-maze Video Tracking System 7.16; STOELTING CO.©, 2022). Para isso, foram delimitadas na arena as áreas de localização dos objetos novo e familiar (aproximadamente 700 cm²) em todas as etapas. Feito isso, era iniciada a análise no *software* que registrou o tempo de exploração de cada objeto, considerando exploração toda vez que a cabeça do animal estava em contato ao objeto. Foi realizado um teste T de *Student* para comparar os valores registrados pela pesquisadora e pelo *software* e não verificada diferença estatística entre as análises ($p > 0,05$).

O índice de discriminação foi calculado por meio da equação $TN/(TN + TF)$ em que TN é o tempo gasto explorando o objeto novo e TF é o tempo gasto explorando o objeto familiar (Rojas *et al.*, 2013). O valor da razão de discriminação pode variar de 0 a 1 (Fonseca *et al.*, 2013).

4.1.10.2. Citocinas pró e anti-inflamatórias

As citocinas Interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), interleucina 1 beta (IL-1 β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foram quantificadas nos tecidos do hipocampo e músculos esqueléticos gastrocnêmio e sóleo por meio do método ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Para as análises teciduais foi realizado um protocolo de homogeneização

no qual 100 mg de tecido foram homogeneizados com 1 mL de solução de extração de citocinas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C, retirado o infranadante que foi congelado a -20°C para posterior análise por ELISA.

4.1.10.3. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

As concentrações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no soro e no hipocampo foram analisadas por meio do método ELISA (ELISA; Human/Mouse BDNF DuoSet kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). As análises foram realizadas seguindo todas as recomendações e instruções do fabricante. Para as análises teciduais foi realizado um protocolo de homogeneização no qual 80 mg de tecido foram homogeneizados com 0,8 mL de solução de extração de citocinas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C, retirado o infranadante que foi congelado a -20°C para posterior análise por ELISA.

4.1.11. Análise estatística

Os dados estão apresentados em média \pm desvio padrão (DP). A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelo teste de Shapiro-wilk e Brown-Forsythe, respectivamente. Foi utilizada uma ANOVA *two-way* de medidas repetidas para comparar a memória de longo prazo pré e pós-60 dias de dieta, seguida da sessão experimental, levando em conta os fatores grupos (RI.REP vs. RI.EFM) e tempo (pré vs. pós). Quando encontradas interações significativas na ANOVA foi realizado o teste *post hoc* de *Tukey* para comparar as diferenças entre os pares (Sampaio, 2007). Para comparar as concentrações de citocinas e BDNF entre os grupos foi realizado um teste T de *Student*. Todas as análises foram realizadas no software SigmaPlot 14.5 (SYSTAT SOFTWARE, USA) adotando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

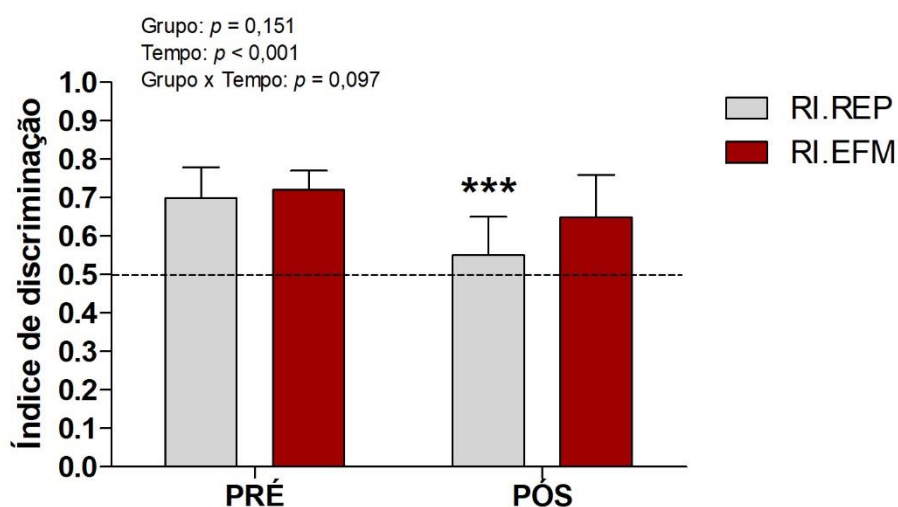
4.2. Resultados

4.2.1. Memória de longo prazo

A MLP foi analisada nos momentos pré e pós-60 dias de dieta, sendo que neste, antes da avaliação, os grupos passaram por suas respectivas sessões experimentais (repouso ou exercício de força muscular).

Quando analisados os resultados, foi possível observar que houve uma queda no índice de discriminação no grupo RI.REP quando comparados os momentos pré e pós ($0,70 \pm 0,08$ vs. $0,55 \pm 0,11$; $p < 0,001$; $F = 19,617$). Além disso, quando comparados os grupos RI.REP e RI.EFM no momento pós, foi possível verificar diferença estatística entre eles ($0,55 \pm 0,11$ vs. $0,65 \pm 0,11$; $p < 0,05$; $F = 3,126$) (Figura 12).

Figura 12. Memória de longo prazo pré e após sessão experimental



Média \pm DP. *** Diferença significativa em relação ao momento pré ($p < 0,001$); # Diferença entre os grupos ($p < 0,05$); RI.REP = 8; RI.EFM = 9.
Fonte: Elaboração própria.

4.2.2. Citocinas pró e anti-inflamatórias

As citocinas foram analisadas nos músculos gastrocnêmio e sóleo e no hipocampo. As concentrações de IL-6 e IL10 e a razão IL-6/IL-10 no músculo gastrocnêmio não foram estatisticamente diferentes entre os grupos (Tabela 7). Entretanto, quando analisado o músculo sóleo, foi verificada diferença estatística entre os grupos nas concentrações de IL-6 ($p < 0,01$) e na razão IL-6/IL-10 ($p < 0,001$), sendo maiores no grupo RI.EFM (Tabela 8). Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das citocinas pró (IL-6, IL-1 β e TNF- α) e anti-inflamatória (IL-10) no hipocampo (Tabela 9).

Tabela 7. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: gastrocnêmio

Citocina (pg.mL ⁻¹)	RI.REP	RI.EFM	Teste t
IL-6	219,8 ± 52,1	234,3 ± 58,6	$p = 0,585$
IL-10	34,4 ± 8,7	42,3 ± 10,4	$p = 0,091$
IL-6/IL-10	6,0 ± 0,3	5,8 ± 0,9	$p = 0,548$

CON: Grupo não resistente à insulina; RI: Grupo resistente à insulina; IL-6: Interleucina 6; IL-10: Interleucina 10; IL-6/IL-10: Razão IL-6/IL-10. Média ± DP. RI.REP = 9; RI.EFM = 9.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 8. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: sóleo

Citocina (pg.mL ⁻¹)	RI.REP	RI.EFM	Teste t
IL-6	332,5 ± 86,2	531,6 ± 125,1 ^{##}	$p < 0,01$
IL-10	15,0 ± 3,9	14,5 ± 2,5	$p = 0,764$
IL-6/IL-10	21,8 ± 3,4	39,9 ± 6,8 ^{###}	$p < 0,001$

CON: Grupo não resistente à insulina; RI: Grupo resistente à insulina; IL-6: Interleucina 6; IL-10: Interleucina 10; IL-6/IL-10: Razão IL-6/IL-10. Média ± DP. # Diferença entre os grupos ($p < 0,05$); ## Diferença entre os grupos ($p < 0,01$); ### Diferença entre os grupos ($p < 0,001$). RI.REP = 9; RI.EFM = 8.

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 9. Citocinas pró e anti-inflamatórias após sessão experimental: hipocampo

Citocina (pg.mL ⁻¹)	RI.REP	RI.EFM	Teste t
IL-6	503,1 ± 58,7	505,6 ± 88,1	$p = 0,942$
IL-10	14,8 ± 3,9	17,9 ± 5,2	$p = 0,183$
IL-6/IL-10	35,8 ± 9,0	28,4 ± 5,6	$p = 0,061$
IL-1 β	439,7 ± 71,8	462,2 ± 41,5	$p = 0,440$
TNF- α	2.391,1 ± 397,7	2.647,2 ± 335,8	$p = 0,136$

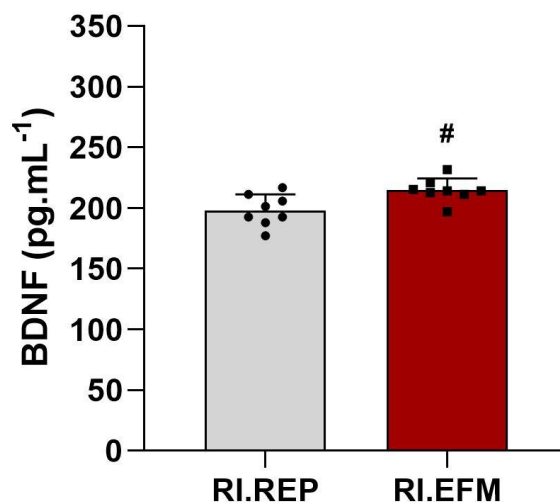
CON: Grupo não resistente à insulina; RI: Grupo resistente à insulina; IL-6: Interleucina 6; IL-10: Interleucina 10; IL-6/IL-10: Razão IL-6/IL-10. Média ± DP. RI.REP = 9. RI.EFM = 9.

Fonte: Elaboração própria.

4.2.3. Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)

A concentração de BDNF foi analisada no hipocampo. Foi verificada diferença estatística entre os grupos RI.REP e RI.EFM ($231,53 \pm 36,04$ vs. $198,52 \pm 15,74$ pg.mL⁻¹; $p < 0,05$), sendo maior no grupo que realizou a sessão de exercício de força muscular (Figura 13).

Figura 13. Concentração de BDNF no hipocampo após sessão experimental.



Diferença entre os grupos ($p < 0,05$); Média \pm DP. RI.REP = 9; RI.EFM = 8.
 Fonte: Elaboração própria.

4.3. Discussão

O exercício de força muscular (EFM) evitou a piora da memória de longo prazo e aumentou a concentração de BDNF no hipocampo de ratos resistentes à insulina. Entretanto, o EFM não provocou mudança no perfil inflamatório no hipocampo destes animais, o que foi observado no músculo sóleo, que apresentou aumento no *status* pró-inflamatório após a sessão de exercício.

No que concerne as alterações cognitivas em resposta ao exercício de força muscular, Chang & Etnier (2009), em acordo com nossos achados, observaram em homens e mulheres jovens que uma sessão aguda de EFM melhorou a velocidade de processamento e função executiva. Já Tsai *et al.* (2018) verificaram que 30 minutos de EFM melhoraram a capacidade cognitiva de idosos com comprometimento cognitivo leve, entretanto sem alterar a concentração sérica de BDNF. Dados recentes de nosso grupo corroboram os achados de Tsai *et al.* (2018), uma vez que mostram que uma sessão de 40 minutos de EFM melhorou o tempo de resposta e o controle inibitório de idosos diabéticos do tipo 2, de ambos os sexos, sem modificar a concentração sérica de BDNF (Silveira-Rodrigues *et al.*, 2023). Dinoff *et al.* (2017) observaram em sua metanálise que, embora grande parte dos estudos avaliando os efeitos de uma sessão aguda de exercício sobre a resposta do BDNF tenha usado o exercício aeróbico (EA), o EFM tem se mostrado também

eficaz em aumentar a concentração circulante de BDNF em seres humanos saudáveis. Cabe salientar que em nosso estudo, diferentemente dos trabalhos aqui citados, a concentração de BDNF foi avaliada no cérebro dos animais.

Em sua revisão, Walsh & Tschakovsky (2018) citam o estresse de cisalhamento no endotélio vascular (fluxo sanguíneo muscular e cerebral) e o aumento da atividade neural durante o exercício como alguns dos possíveis mecanismos de liberação de BDNF em resposta a uma sessão aguda de exercício. O estresse de cisalhamento provoca a secreção de BDNF pelas células endoteliais, que é proporcional à magnitude dos estímulos do exercício (Prigent-Tessier *et al.*, 2013), e esse BDNF, produzido no endotélio, é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica, aumentando assim a concentração cerebral dessa neurotrofina (Walsh; Tschakovsky, 2018). Considerando a atividade neural, sabe-se que, quando aumentada, ela estimula a secreção de BDNF (West; Greenberg, 2011). Portanto, é possível que o exercício físico aumente a atividade neural em áreas do cérebro, como hipocampo e córtex pré-frontal, e, conseqüentemente, leve ao aumento da concentração de BDNF nessas regiões (Wrann *et al.*, 2013). Apesar desses mecanismos não terem sido avaliados no presente estudo, eles podem ser uma via de explicação para o aumento de BDNF no hipocampo induzido pelo EFM agudo.

Em nosso estudo, o aumento da concentração de BDNF no hipocampo dos animais, promovido pelo EFM, pode ser uma das vias através das quais o EFM tenha impedido a piora da memória de longo prazo nos animais RI. Kim *et al.* (2012) verificaram que a sinalização de BDNF aumenta a expressão gênica dos receptores de glutamato (NMDAR), principalmente dos receptores NR1, por um mecanismo mediado por CREB. Essa resposta leva a um aumento do influxo de Ca^{2+} , através do NMDAR, que pode levar a mudanças duradouras nas sinapses, melhorando a aprendizagem e a memória (Marosi; Mattson, 2014).

Neste estudo, foi observado que o EFM agudo promoveu o aumento da concentração de IL-6 e da razão IL-6/IL-10 no músculo sóleo. A IL-6 é uma miocina liberada durante o exercício físico e sua produção é dependente do estresse metabólico causado no músculo (Pedersen, 2012). Esta miocina é regulada positivamente em resposta a baixos níveis de glicogênio (Keller *et al.*, 2001) e, quando liberada, aumenta a disponibilidade de glicose. Isso ocorre pois, quando liberada, a IL-6 ativa a AMPK tanto no músculo esquelético quanto no tecido adiposo

(Al-Khalili *et al.*, 2006; Carey *et al.*, 2006; Kelly *et al.*, 2004). Essa ativação leva ao aumento da captação de glicose (Fisher *et al.*, 2002) por meio de mecanismos que envolvem a transdução aumentada do sinal de insulina (Carey *et al.*, 2006; Jakobsen *et al.*, 2001).

Foi observado no presente estudo que o EFM evitou a piora da MLP e o aumento da concentração de BDNF no hipocampo, promovida pelo EFM, é uma via de explicação para esse achado. Isso ocorre pois o BDNF é capaz de aumentar a expressão gênica de NMDAR, levando ao aumento do influxo de Ca^{2+} , acarretando mudanças duradouras nas sinapses, melhorando a aprendizagem e a memória.

4.4. Conclusão

Uma única sessão de exercício de força muscular evitou os prejuízos causados pela resistência à insulina na memória de longo prazo. Esse achado aparentemente relaciona-se ao aumento da concentração de BDNF na região do hipocampo promovido pelo EFM.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes - 2022. *Diabetes Care*. v. 43, n. 1, p. 19-54, 2020.

AL-KHALILI, L. *et al.* Signaling specificity of interleukin-6 action on glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *Molecular Endocrinology*, v. 20, n. 12, p. 3364–3375, 2006.

ARMSTRONG, R. B.; PHELPS, R. O. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *American Journal of Anatomy*, v. 171, n. 3, p. 259–272, 1984.

ARNOLD, S. E. *et al.* High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. *Neurobiology of Disease*, v. 67, p. 79–87, 2014.

BARCO, A.; MARIE, H. Genetic approaches to investigate the role of CREB in neuronal plasticity and memory. *Molecular Neurobiology*, v. 44, n. 3, p. 330–349, 2011.

BEKINSCHTEIN, P. *et al.* Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? *Seminars in Cell and Developmental Biology*, v. 22, n. 5, p. 536–542, 2011.

BELLAVERE, F. *et al.* Effects of aerobic or resistance exercise training on cardiovascular autonomic function of subjects with type 2 diabetes: A pilot study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, v. 28, n. 3, p. 226–233, 2018.

BENITO, E.; BARCO, A. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends in Neurosciences*, v. 33, n. 5, p. 230–240, 2010.

BERTRAM, S.; BRIXIUS, K.; BRINKMANN, C. Exercise for the diabetic brain: how physical training may help prevent dementia and Alzheimer's disease in T2DM patients. *Endocrine*, v. 53, n. 2, p. 350–363, 2016.

BEVINS, R. A.; BESHEER, J. Object recognition in rats and mice: A one-trial non-matching-to-sample learning task to study "recognition memory". *Nature Protocols*, v. 1, n. 3, p. 1306–1311, 2006.

BOITARD, C. *et al.* Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 40, p. 9–17, 2014.

BRAMI-CHERRIER, K. *et al.* Dopamine induces a PI3-kinase-independent activation of Akt in striatal neurons: A new route to cAMP response element-binding protein phosphorylation. *Journal of Neuroscience*, v. 22, n. 20, p. 8911–8921, 2002.

- CAI, M. *et al.* The signaling mechanisms of hippocampal endoplasmic reticulum stress affecting neuronal plasticity-related protein levels in high fat diet-induced obese rats and the regulation of aerobic exercise. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 57, p. 347–359, 2016.
- CAPETTINI, S. B. *et al.* Vesicular acetylcholine transporter knock-down mice show sexual dimorphism on memory. *Brain Research Bulletin*, v. 85, n. 1–2, p. 54–57, 2011.
- CAREY, A. L. *et al.* Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes*, v. 55, n. 10, p. 2688–2697, 2006.
- CASSILHAS, R. C. *et al.* Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience*, v. 202, p. 309–317, 2012a.
- CASSILHAS, R. C. *et al.* Resistance exercise improves hippocampus-dependent memory. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 45, n. 12, p. 1215–1220, 2012b.
- CASSILHAS, RICARDO C. *et al.* Mood, anxiety, and serum IGF-1 in elderly men given 24 weeks of high resistance exercise. *Perceptual and Motor Skills*, v. 110, n. 1, p. 265–276, 2010.
- CASTANEDA, C. *et al.* A Randomized Controlled Trial of Resistance Exercise Training to Improve Glycemic Control in Older Adults With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, v. 25, n. 12, p. 2335–2341, 2002.
- CAVALIERE, G. *et al.* High-Fat Diet Induces Neuroinflammation and Mitochondrial Impairment in Mice Cerebral Cortex and Synaptic Fraction. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 13, n. November, p. 1–13, 2019.
- CHAIT, A. Diabetic dyslipidaemia. *Cardiovascular Journal of Africa*, v. 18, n. 3, p. 195, 2007.
- CHANG, Y. K.; ETNIER, J. L. Exploring the dose-response relationship between resistance exercise intensity and cognitive function. *Journal of Sport and Exercise Psychology*, v. 31, n. 5, p. 640–656, 2009.
- CHATTERJEE, S.; KHUNTI, K.; DAVIES, M. J. Type 2 diabetes. *The Lancet*, v. 389, n. 10085, p. 2239–2251, 2017.
- CHEN, L. *et al.* Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *International Journal of Endocrinology*, v. 2015, 2015.

- COLBERG, S. R. *et al.* Physical activity/exercise and diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, v. 39, n. 11, p. 2065–2079, 2016.
- COTMAN, C. W.; BERCHTOLD, N. C.; CHRISTIE, L. A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences*, v. 30, n. 9, p. 464–472, 2007.
- CRAFT, S. Insulin Resistance and Alzheimers Disease Pathogenesis: Potential Mechanisms and Implications for Treatment. *Current Alzheimer Research*, v. 4, n. 2, p. 147–152, 2007.
- CRUNFLI, F. *et al.* Cannabinoid Receptor Type 1 Agonist ACEA Improves Cognitive Deficit on STZ-Induced Neurotoxicity Through Apoptosis Pathway and NO Modulation. *Neurotoxicity Research*, v. 35, n. 3, p. 516–529, 2019.
- CRUNFLI, F. *et al.* NO-Dependent Akt Inactivation by S-Nitrosylation as a Possible Mechanism of STZ-Induced Neuronal Insulin Resistance. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 65, n. 4, p. 1427–1443, 2018.
- DE SOUSA, R. A. L. *et al.* High-intensity resistance training induces changes in cognitive function, but not in locomotor activity or anxious behavior in rats induced to type 2 diabetes. *Physiology and Behavior*, v. 223, n. August 2019, p. 112998, 2020.
- DEFRONZO, R. A. *et al.* Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 1, n. July, p. 1–23, 2015.
- DI BONAVENTURA, M. V. M. *et al.* Brain alterations in high fat diet induced obesity: Effects of tart cherry seeds and juice. *Nutrients*, v. 12, n. 3, p. 1–20, 2020.
- DI MARCO, E. *et al.* Are reactive oxygen species still the basis for diabetic complications? *Clinical Science*, v. 129, n. 2, p. 199–216, 2015.
- DINEL, A. L. *et al.* Cognitive and emotional alterations are related to hippocampal inflammation in a mouse model of metabolic syndrome. *PLoS ONE*, v. 6, n. 9, 2011.
- DINOFF, A. The effect of acute exercise on blood concentrations of brain-derived neurotrophic factor in healthy adults: a meta-analysis. *European Journal of Neuroscience*, v. 46, p. 1635-1646, 2017.
- DU, K.; MONTMINY, M. CREB is a regulatory target for the protein kinase Akt/PKB. *Journal of Biological Chemistry*, v. 273, n. 49, p. 32377–32379, 1998.
- EBERT, S. M. *et al.* Stress-induced skeletal muscle Gadd45a expression reprograms myonuclei and causes muscle atrophy. *Journal of Biological Chemistry*, v. 287, n. 33, p. 27290–27301, 2012.

- EGAN, M. F. *et al.* The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, v. 112, n. 2, p. 257–269, 2003.
- FERRARI, F. *et al.* Biochemical and molecular mechanisms of glucose uptake stimulated by physical exercise in insulin resistance state: Role of inflammation. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 113, n. 6, p. 1139–1148, 2019.
- FILGUEIRAS, J. R. *et al.* Morphological and functional changes in skeletal muscle in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Physiotherapy Theory and Practice*, v. 00, n. 00, p. 1–27, 2022.
- FINKBEINER, S. to Survival Messages. *Science*, v. 25, p. 11–14, 2000.
- FISHER, J. *et al.* Activation of AMP kinase enhances sensitivity of muscle glucose transport to insulin. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism*, v. 282, p. 18-23, 2002.
- FONSECA, C. S. *et al.* Object recognition memory and temporal lobe activation after delayed estrogen replacement therapy. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 101, p. 19–25, 2013.
- FU, Z. *et al.* Long-term high-fat diet induces hippocampal microvascular insulin resistance and cognitive dysfunction. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v. 312, n. 2, p. E89–E97, 2017.
- GAO, D. *et al.* Interleukin-1 β mediates macrophage-induced impairment of insulin signaling in human primary adipocytes. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v. 307, n. 3, p. 289–304, 2014.
- GARBER, C. E. *et al.* Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 43, n. 7, p. 1334–1359, 2011.
- GARCIA-ROVES, P. *et al.* Raising plasma fatty acid concentration induces increased biogenesis of mitochondria in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 104, n. 25, p. 10709–10713, 2007.
- GHIBAUDI, L. *et al.* Fat Intake Affects Adiposity, Comorbidity Factors, and Energy Metabolism of Sprague-Dawley Rats. *Obesity Research*, v. 10, n. 9, p. 956-963, 2002.
- GIACCO, ET AL. Oxidative stress and diabetic complications Ferdinando NIH Public Access. *NIH Public Access Author Manuscript*, v. 107, n. 9, p. 1058–1070, 2011.
- GORDON, B. A. *et al.* Resistance training improves metabolic health in type 2 diabetes: A systematic review. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 83, n. 2, p. 157–175, 2009.

HEILBRONN, L.; CAMPBELL, L. Adipose Tissue Macrophages, Low Grade Inflammation and Insulin Resistance in Human Obesity. *Current Pharmaceutical Design*, v. 14, n. 12, p. 1225–1230, 2008.

HOLLOWAY, G. P. *et al.* In obese rat muscle transport of palmitate is increased and is channeled to triacylglycerol storage despite an increase in mitochondrial palmitate oxidation. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v. 296, n. 4, p. 738–747, 2009.

HOLMSTRÖM, M. H. *et al.* Tissue-specific control of mitochondrial respiration in obesity-related insulin resistance and diabetes. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, v. 302, n. 6, p. 731–739, 2012.

HUANG, T. *et al.* The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: A review. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 24, n. 1, p. 1–10, 2014.

ITO, D. *et al.* Chronic running exercise alleviates early progression of nephropathy with upregulation of nitric oxide synthases and suppression of glycation in Zucker diabetic rats. *PLoS ONE*, v. 10, n. 9, p. 1–21, 2015.

JAKOBSEN, S. N. *et al.* 5'-AMP-activated Protein Kinase Phosphorylates IRS-1 on Ser-789 in Mouse C2C12 Myotubes in Response to 5-Aminoimidazole-4-carboxamide Riboside. *Journal of Biological Chemistry*, v. 276, n. 50, p. 46912–46916, 2001.

JEON, B. T. *et al.* Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes*, v. 61, n. 6, p. 1444–1454, 2012.

JOHNSON, A. M. F.; OLEFSKY, J. M. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*, v. 152, n. 4, p. 673–684, 2013.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 840–846, 2006.

KAMEI, Y. *et al.* Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. *Journal of Biological Chemistry*, v. 279, n. 39, p. 41114–41123, 2004.

KANDA, H. *et al.* MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 116, n. 6, p. 1494, 2006.

KELLER, C. *et al.* Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, v. 15, n. 14, p. 2748–2750, 2001.

KELLY, M. *et al.* AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: The effect of exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 320, n. 2, p. 449–454, 2004.

KEMMOCHI, Y. *et al.* Pathophysiological analyses of skeletal muscle in obese type 2 diabetes SDT fatty rats. *Journal of Toxicologic Pathology*, v. 31, n. 2, p. 113–123, 2018.

KIM, J. H. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor uses CREB and Egr3 to regulate NMDA receptor levels in cortical neurons. *Journal of Neurochemistry*, v. 120, n. 2, p. 210–219, 2012.

KLEMM, D. J. *et al.* Insulin stimulates cAMP-response element binding protein activity in HepG2 and 3T3-L1 cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, v. 273, n. 2, p. 917–923, 1998.

KOPONEN, E.; LAKSO, M.; CASTRÉN, E. Overexpression of the full-length neurotrophin receptor trkB regulates the expression of plasticity-related genes in mouse brain. *Molecular Brain Research*, v. 130, n. 1–2, p. 81–94, 2004.

KOSARI, S. *et al.* Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. *Behavioural Brain Research*, v. 235, n. 1, p. 98–103, 2012.

LACERDA, D. *et al.* Osteopetrosis in obese female rats is site-specifically inhibited by physical training. *Experimental Physiology*, v. 100, n. 1, p. 44–56, 2015.

LEAL, G. *et al.* Regulation of hippocampal synaptic plasticity by BDNF. *Brain Research*, v. 1621, p. 82–101, 2015.

LINDQVIST, A. *et al.* High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *European Journal of Neurology*, v. 13, n. 12, p. 1385–1388, 2006.

LIU, Y. *et al.* Luteolin protects against high fat diet-induced cognitive deficits in obesity mice. *Behavioural Brain Research*, v. 267, p. 178–188, 2014.

LIU, Z.; ZHU, C. Causal relationship between insulin resistance and sarcopenia. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2023.

LOZANO, I. *et al.* High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: Impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition and Metabolism*, v. 13, n. 1, p. 1–13, 2016.

LU, J. *et al.* Troxerutin protects against high cholesterol-induced cognitive deficits in mice. *Brain*, v. 134, n. 3, p. 783–797, 2011.

LUMENG, C. N.; SALTIEL, A. R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation*, v. 121, n. 6, p. 2111–2117, 2011.

LUVUNO, M.; KHATHI, A.; MABANDLA, M. V. The effects of exercise treatment on learning and memory ability, and cognitive performance in diet-induced prediabetes animals. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

MAMO, J. C. L. *et al.* Probuocol prevents blood–brain barrier dysfunction and cognitive decline in mice maintained on pro-diabetic diet. *Diabetes and Vascular Disease Research*, v. 16, n. 1, p. 87–97, 2019.

MAROSI, K. & MATTSON, P. *et al.* BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Cell Press*, n. 919, p. 1-10, 2013.

MARTINEZ-HUENCHULLAN, S. F. *et al.* Utility and reliability of non-invasive muscle function tests in high-fat-fed mice. *Experimental Physiology*, v. 102, n. 7, p. 773–778, 2017.

MCLEAN, F. H. *et al.* Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.

MEHTA, B. K.; SINGH, K. K.; BANERJEE, S. Effect of exercise on type 2 diabetes-associated cognitive impairment in rats. *The International journal of neuroscience*, v. 129, n. 3, p. 252–263, 4 mar. 2019.

MELO, B. P. *et al.* Thirty days of combined consumption of a high-fat diet and fructose-rich beverages promotes insulin resistance and modulates inflammatory response and histomorphometry parameters of liver, pancreas, and adipose tissue in Wistar rats. *Nutrition*, v. 91–92, 2021.

MORAIS JUNIOR, G. S. *et al.* Acute strength training promotes responses in whole blood circulating levels of miR-146a among older adults with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Interventions in Aging*, v. 12, p. 1443–1450, 2017.

MOURIER, A. *et al.* Mobilization of visceral adipose tissue related to the improvement in insulin sensitivity in response to physical training in NIDDM: Effects of branched-chain amino acid supplements. *Diabetes Care*, v. 20, n. 3, p. 385–391, 1997.

MOZAFFARIAN, D. *et al.* Lifestyle risk factors and new-onset DM in older adults. *Arch Intern Med*, v. 169, n. 8, p. 798–807, 2009.

NEVES, R. V. P. *et al.* Resistance training in spontaneously hypertensive rats with severe hypertension. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 106, n. 3, p. 201–209, 2016.

OGAWA, K. *et al.* Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. *Mediators of Inflammation*, v. 2010, 2010.

OOMEN, C. A. *et al.* Adult hippocampal neurogenesis and its role in cognition. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, v. 5, n. 5, p. 573–587, 2014.

PADILHA, C. S. *et al.* Moderate vs high-load resistance training on muscular adaptations in rats. *Life Sciences*, v. 238, p. 116964, 2019.

PARK, H. R. *et al.* A high-fat diet impairs neurogenesis: Involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience Letters*, v. 482, n. 3, p. 235–239, 2010.

PARK, H. S. *et al.* Exercise alleviates cognitive functions by enhancing hippocampal insulin signaling and neuroplasticity in high-fat diet-induced obesity. *Nutrients*, v. 11, n. 7, 2019.

PEDERSEN, B. K. Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 44, n. 3, p. 392–396, 2012.

PEREIRA, G. B. *et al.* Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in rat calcaneal tendon. *Connective Tissue Research*, v. 51, n. 6, p. 459–466, 2010.

PIROLI, G. G. *et al.* Corticosterone impairs insulin-stimulated translocation of GLUT4 in the rat hippocampus. *Neuroendocrinology*, v. 85, n. 2, p. 71–80, 2007.

PRATCHAYASAKUL, W. *et al.* Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone. *Life Sciences*, v. 88, n. 13–14, p. 619–627, 2011.

PRESTES, J. *et al.* Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 34, n. 4, p. 700–706, 2009.

PRIGENT-TESSIER, A. *et al.* Physical training and hypertension have opposite effects on endothelial brain-derived neurotrophic factor expression. *Cardiovascular Research*, v. 100, n. 3, p. 374–382, 2013.

PUIG, K. L. *et al.* Amyloid precursor protein and proinflammatory changes are regulated in brain and adipose tissue in a murine model of high fat diet-induced obesity. *PLoS ONE*, v. 7, n. 1, 2012.

RICHTER, E. A.; HARGREAVES, M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiological Reviews*, v. 93, n. 3, p. 993–1017, 2013.

ROBERTSON, R. *et al.* Glucose Toxicity in β -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes*, v. 52, p. 581–587, 2003.

RÖHLING, M. *et al.* Influence of Acute and Chronic Exercise on Glucose Uptake. *Journal of Diabetes Research*, v. 2016, 2016.

ROJAS, J. J. *et al.* Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Experimental Neurology*, v. 241, n. 1, p. 25–33, 2013.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 3ª edição. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007.

SANDRI, M. *et al.* Foxo Transcription Factors Induce the Atrophy-Related Ubiquitin Ligase Atrogin-1 and Cause Skeletal Muscle Atrophy. *Cell*, v. 117, p.399-412, 2004.

SHARMA, S. High fat diet and its effects on cognitive health: alterations of neuronal and vascular components of brain. *Physiology & behavior*, v. 240, 15 out. 2021.

SHARMA, S. *et al.* Phosphodiesterases: Regulators of cyclic nucleotide signals and novel molecular target for movement disorders. *European Journal of Pharmacology*, v. 714, n. 1–3, p. 486–497, 2013.

SHIOTA, M.; PRINTZ, R. L. Diabetes in Zucker diabetic fatty rat. *Methods in Molecular Biology*, v. 933, p. 103–123, 2012.

SILVEIRA-RODRIGUES, J. G. *et al.* Acute bouts of aerobic and resistance exercise similarly alter inhibitory control and response time while inversely modifying plasma BDNF concentrations in middle-aged and older adults with type 2 diabetes. *Experimental Brain Research*, 2023.

STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; HAEFTEN, T. W. VAN. Haeften_Pathogenesis of type 2 diabetes.pdf. *The Lancet*, v. 365, p. 1333–1346, 2005.

SYLOW, L. *et al.* Exercise-stimulated glucose uptake-regulation and implications for glycaemic control. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 13, n. 3, p. 133–148, 2017.

TOLEDO, F. G. S. *et al.* Effects of physical activity and weight loss on skeletal muscle mitochondria and relationship with glucose control in type 2 diabetes. *Diabetes*, v. 56, n. 8, p. 2142–2147, 2007.

TSAI, C. L. *et al.* An acute bout of aerobic or strength exercise specifically modifies circulating exerkine levels and neurocognitive functions in elderly individuals with mild cognitive impairment. *NeuroImage: Clinical*, v. 17, n. 1, p. 272–284, 2018.

VALE, R. G. DE S. *et al.* Effects of muscle strength and aerobic training on basal serum levels of IGF-1 and cortisol in elderly women. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, v. 49, n. 3, p. 343–347, 2009.

VAN DIJK, J. W. *et al.* Both resistance- and endurance-type exercise reduce the prevalence of hyperglycaemia in individuals with impaired glucose tolerance and in insulin-treated and non-insulin-treated type 2 diabetic patients. *Diabetologia*, v. 55, n. 5, p. 1273–1282, 2012.

VILELA, T. C. *et al.* Strength and Aerobic Exercises Improve Spatial Memory in Aging Rats Through Stimulating Distinct Neuroplasticity Mechanisms. *Molecular Neurobiology*, v. 54, n. 10, p. 7928–7937, 2017.

WALSH, J. J.; TSCHAKOVSKY, M. E. Exercise and circulating bdnf: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v. 43, n. 11, p. 1095–1104, 2018.

WANG, Q. *et al.* FGF21 Attenuates High-Fat Diet-Induced Cognitive Impairment via Metabolic Regulation and Anti-inflammation of Obese Mice. *Molecular Neurobiology*, v. 55, n. 6, p. 4702–4717, 2018.

WEISBERG, S. P. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 12, p. 1796–1808, 2003.

WEST, A. E.; GREENBERG, M. E. Neuronal activity-regulated gene transcription in synapse development and cognitive function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 3, n. 6, p. 1–21, 2011.

WINOCUR, G. *et al.* Memory impairment in Obese Zucker rats: An investigation of cognitive function in an animal model of insulin resistance and obesity. *Behavioral Neuroscience*, v. 119, n. 5, p. 1389–1395, 2005.

WRANN, C. D. *et al.* Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metabolism*, v. 18, n. 5, p. 649–659, 2013.

XIA, S. F. *et al.* Differential effects of quercetin on hippocampus-dependent learning and memory in mice fed with different diets related with oxidative stress. *Physiology and Behavior*, v. 138, p. 325–331, 2015.

XU, H. *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance Find the latest version : Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 12, p. 1821–1830, 2003.

XU, J. *et al.* Melatonin alleviates cognition impairment by antagonizing brain insulin resistance in aged rats fed a high-fat diet. *Journal of Pineal Research*, v. 67, n. 2, p. 1–14, 2019.

YARROW, J. F. *et al.* Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neuroscience Letters*, v. 479, n. 2, p. 161–165, 2010.

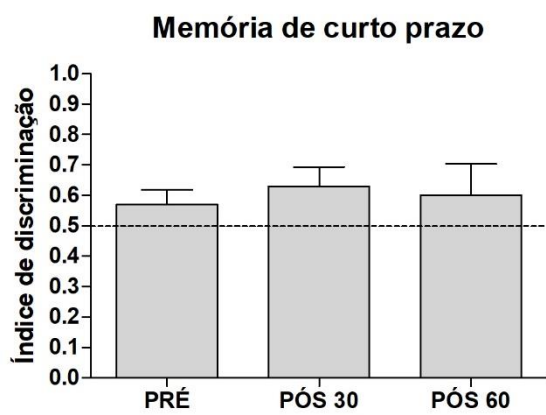
YI, S. S. *et al.* Effects of treadmill exercise on cell proliferation and differentiation in the subgranular zone of the dentate gyrus in a rat model of type ii diabetes. *Neurochemical Research*, v. 34, n. 6, p. 1039–1046, 2009.

YU, M. *et al.* High mobility group box-1 mediates hippocampal inflammation and contributes to cognitive deficits in high-fat high-fructose diet-induced obese rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 82, n. May, p. 167–177, 2019.

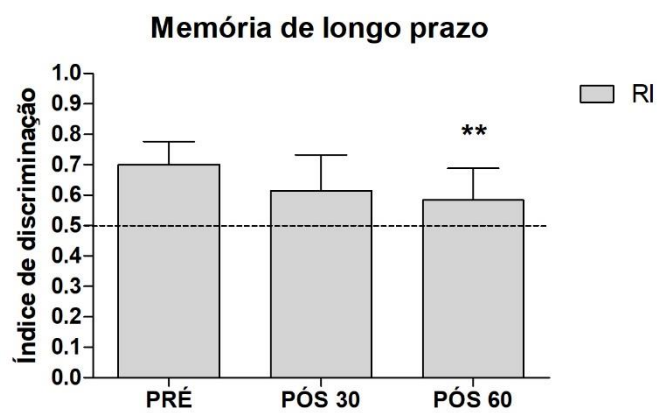
ZHENG, Y.; LEY, S. H.; HU, F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 14, n. 2, p. 88–98, 2018.

ZULOAGA, K. L. *et al.* High fat diet-induced diabetes in mice exacerbates cognitive deficit due to chronic hypoperfusion. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, v. 36, n. 7, p. 1257–1270, 2016.

ANEXO I



$p = 0,289$; $F = 1,359$



** $p < 0,01$ PÓS 60 vs. PRÉ; $F = 8,456$.