

## TREINAMENTO MODERADO REDUZ GORDURA EPICÁRDICA E HIPERTRIGLICERIDEMIA AFETA PLEXO CARDÍACO EM CAMUNDONGOS APOCIII-TGN

### MODERATE TRAINING REDUCES EPICARDIAL FAT, AND HYPERTRIGLYCERIDEMIA AFFECTS CARDIAC PLEXUS IN APOCIII-TGN MICE

Nilton Rodrigues Teixeira Junior<sup>1</sup>, Bruno Jun Komagome<sup>1</sup>, Diogo Rodrigues Jimenes<sup>1</sup>, Cristiany Schultz<sup>1</sup>, Carmem Patrícia Barbosa<sup>1</sup> e Jairo Augusto Berti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, Brasil.

#### RESUMO

A hipertrigliceridemia está diretamente relacionada ao aumento global de doenças cardiovasculares e metabólicas. Tal condição clínica pode ser investigada por meio de modelos animais com alteração gênica e proteica da apolipoproteína CIII (apoCIII). O plexo cardíaco e o tecido adiposo epicárdico (TAE) são importantes estruturas cardíacas com papéis vitais no processamento nervoso do coração e na disponibilização de suporte e energia para a sua contração. Este estudo analisou o plexo cardíaco e o TAE de camundongos transgênicos (CIII) e não-transgênicos (NTG), submetidos a um treinamento físico em esteira, (3 dias na semana por 40 minutos a 60% da velocidade pico) durante 8 semanas. Os animais CIII apresentaram hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. No entanto, a superexpressão da apoCIII não modificou a glicemia, a massa corporal e cardíaca, e a área dos adipócitos do TAE. Todavia, a área neuronal dos animais CIII foi significativamente menor (NTG Sed 193±38  $\mu\text{m}^2$  vs. CIII Sed 161±11  $\mu\text{m}^2$ ) do que a dos animais não transgênicos. Com o treinamento, a área dos adipócitos do TAE foi menor, de modo independente da expressão da apoCIII (NTG Sed 380±60  $\mu\text{m}^2$ ; CIII Sed 358±58  $\mu\text{m}^2$ ; NTG Ex 305±52  $\mu\text{m}^2$ ; CIII Ex 307±57  $\mu\text{m}^2$ ), mas não houve alteração na área neuronal. Conclui-se que os grupos treinados apresentaram menor área nos neurônios do plexo cardíaco, enquanto os CIII tiveram redução deste parâmetro.

**Palavras-chave:** Dislipidemia. Neurônios cardíacos. Tecido adiposo epicárdico. Exercício físico. Apolipoproteína CIII.

#### ABSTRACT

Hypertriglyceridemia is directly related to the global increase in cardiovascular and metabolic diseases. This clinical condition can be investigated using animal models with gene and protein alterations in apolipoprotein CIII (apoCIII). The cardiac plexus and epicardial adipose tissue (EAT) are important cardiac structures with vital roles in the nervous processing of the heart and in providing support and energy for its contraction. This study analyzed the cardiac plexus and the TAE of transgenic (CIII) and non-transgenic (NTG) mice submitted to treadmill exercise training (3 days a week for 40 minutes at 60% of peak speed) for 8 weeks. The CIII animals showed hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia. However, overexpression of apoCIII did not modify glycemia, body and heart mass, and the area of adipocytes in the TAE. However, the neuronal area of the CIII animals was significantly smaller (NTG Sed 193±38  $\mu\text{m}^2$  vs. CIII Sed 161±11  $\mu\text{m}^2$ ) than that of the non-transgenic animals. With training, the area of TAE adipocytes was smaller, independently of apoCIII expression (NTG Sed 380±60  $\mu\text{m}^2$ ; CIII Sed 358±58  $\mu\text{m}^2$ ; NTG Ex 305±52  $\mu\text{m}^2$ ; CIII Ex 307±57  $\mu\text{m}^2$ ), but there was no change in neuronal area. It can be concluded that the training groups have a smaller, while the CIII groups have a smaller neuronal area in the cardiac plexus.

**Keywords:** Dyslipidemia. Cardiac neurons. Epicardial adipose tissue. Physical exercise. Apolipoprotein CIII.

#### Introdução

A hipertrigliceridemia é caracterizada pelo aumento dos triglicérides (TG) no sangue, associando-se a muitas doenças que figuram dentre as principais causas de mortalidade global<sup>1</sup>. Sua origem é complexa e sua natureza é multifacetada, uma vez que pode estar atrelada a fatores primários (como alterações genéticas)<sup>2</sup> e secundários (relacionados ao estilo de vida e comportamento: dieta inadequada, etilismo, estresse, tabagismo e sedentarismo). Assim, a multiplicidade na etiologia ressalta a necessidade de abordagens iniciais personalizadas que facilitem seu diagnóstico, tratamento e prevenção<sup>3</sup>.

O estudo da hipertrigliceridemia e do metabolismo lipídico tem sido viabilizado através de diversos modelos laboratoriais, dentre os quais se destaca o uso de camundongos geneticamente modificados que superexpressam ou ausentam determinados genes. Um desses modelos experimentais utiliza camundongos transgênicos que superexpressam a apolipoproteína CIII humana (apoCIII), devido a modulação gênica e proteica que a mesma desempenha sobre a regulação do metabolismo de gorduras<sup>4</sup>.

A apoCIII é sintetizada predominantemente no fígado (e em menor quantidade no intestino) e é encontrada em grande proporção nas lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomícrons, VLDL e IDL). A superexpressão gênica e proteica desta apolipoproteína em camundongos resulta em hipertrigliceridemia, principalmente por retardar a remoção dos TG das lipoproteínas, por diminuir a afinidade destas pela lipoproteína lipase (LPL) e por reduzir sua captação. Assim, níveis elevados de apoCIII também podem estar associados a distúrbios como hipercolesterolemia e aumento de ácidos graxos livres no sangue<sup>5-8</sup>.

A hipertrigliceridemia é reconhecida como um grave fator de risco para o desenvolvimento de doenças metabólicas (como o diabetes *mellitus* do tipo II, esteatose hepática e síndrome metabólica) e cardiovasculares (como cardiopatias isquêmicas e aterosclerose)<sup>9</sup>. O surgimento das doenças cardiovasculares relaciona-se ao fato de que, sob tais condições, diversos prejuízos funcionais ocorrem não só ao tecido muscular cardíaco, mas também a outras importantes estruturas do coração<sup>10-12</sup>.

Dentre tais estruturas, ressalta-se o plexo cardíaco que desempenha papel essencial no funcionamento do coração. Constituído por um vasto conjunto de gânglios neuronais localizados na região atrial, próximo aos grandes vasos da base, é também conhecido como pequeno cérebro ou sistema nevoso cardíaco intrínseco. Seus neurônios são responsáveis pelo processamento e transmissão dos impulsos nervosos simpáticos e parassimpáticos, contribuindo assim para a regulação autonômica do sistema nodal e, conseqüentemente, para a efetividade cardíaca<sup>13-15</sup>. Além disso, estudos têm indicado que alterações morfológicas no plexo cardíaco podem comprometer seu funcionamento, e sua disfunção pode estar associada a graves condições, como o infarto do miocárdio<sup>16-17</sup>.

Outra importante estrutura do coração considerada essencial ao seu funcionamento e que pode estar relacionada à hipertrigliceridemia, é o tecido adiposo epicárdico (TAE), localizado entre o miocárdio e o pericárdio visceral. Isso porque, este tecido apresenta propriedades elásticas e de compressibilidade que conferem proteção mecânica aos vasos coronarianos e representa uma estrutura de apoio para o próprio plexo cardíaco<sup>18</sup>. Ademais, o TAE pode fornecer energia ao coração devido sua capacidade de absorver e liberar ácidos graxos livres, sendo assim considerado um fator de modulação lipídica. Desta forma, o TAE também é entendido como um órgão endócrino, liberando adipocinas que, além de funcionarem como mediadores inflamatórios, são capazes de regular o tônus vascular<sup>19</sup>.

Tendo em vista o papel comprometedor da hipertrigliceridemia na saúde cardíaca, o treinamento físico tem sido apontado como uma ferramenta não-farmacológica de prevenção e tratamento das comorbidades associadas a tal condição. Evidências sólidas têm destacado os benefícios do exercício para o aprimoramento de todos os sistemas corporais, sendo, portanto, considerado fundamental no tratamento de diversas doenças, incluindo as cardiovasculares<sup>20-22</sup>. Diversos estudos têm apontado a habilidade do treinamento físico em melhorar o funcionamento do tecido adiposo e combater doenças metabólicas<sup>23</sup>, em proteger os neurônios do plexo cardíaco dos efeitos degenerativos do envelhecimento<sup>24-25</sup> e em melhorar a função endotelial por meio da redução da concentração plasmática de TG<sup>26-27</sup>.

Neste contexto, considerando a relevância da hipertrigliceridemia no desenvolvimento de graves doenças e os inúmeros benefícios do treinamento físico para a saúde cardíaca, este

estudo objetivou aprofundar o entendimento sobre os efeitos da interação treinamento aeróbio moderado e hipertrigliceridemia sobre a morfologia do plexo cardíaco e do TAE de camundongos transgênicos para a apoCIII humana.

## **Materiais e Métodos**

### *Amostra*

Este estudo é uma sequência de um estudo já publicado pelo nosso grupo de pesquisa<sup>28</sup>. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão Interna de Biossegurança - CTNBio nº 819/2013 e Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 7925010719) da Universidade Estadual de Maringá.

Inicialmente, foram utilizados 34 camundongos machos com 15 meses de idade da linhagem C57Bl/6. Destes, 18 animais representaram o modelo de hipertrigliceridemia primária por meio da superexpressão gênica e proteica da apoCIII humana (grupo CIII). Os 16 animais restantes representaram o grupo controle não-transgênicos (grupo NTG), pois, embora apresentassem a apoCIII basal, não superexpressaram a apoCIII humana<sup>6</sup>. Todos os animais foram reproduzidos e mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Maringá (DFS-UEM), com ciclo de claro e escuro de 12 horas, temperatura em  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  e livre acesso à água e alimento (ração balanceada Nuvilab<sup>®</sup>).

A diferenciação entre os grupos se deu por meio de genotipagem<sup>29</sup> que consistiu na dosagem da trigliceridemia ao 60º dia de vida pós-natal. Assim, animais que tiveram a dosagem de TG menor que 100 mg/dL foram considerados não-transgênicos (NTG) e aqueles que tiveram tal dosagem acima de 300 mg/dL foram classificados como transgênico (CIII).

Após confirmada as genotipagens, os animais NTG e CIII foram subdivididos em grupos treinado e sedentário: NTG Sed, NTG Ex, CIII Sed, CIII Ex (n=8). Todavia, devido adversidades na adesão ao treinamento, os grupos treinados tiveram uma perda amostral, resultando em 6 animais no grupo NTG Ex e 5 no grupo CIII Ex.

Inicialmente, 1 capilar (~50µL) de sangue caudal foi coletado de todos os animais para se obter as concentrações plasmáticas iniciais de TG e colesterol (COL), utilizando kits colorimétricos. Adicionalmente, uma gota de sangue foi separada para dosagem da glicemia inicial através de um glicosímetro ACCU-CHEK<sup>®</sup>. Vale ressaltar que a massa corporal total, o consumo de água e de ração de todos os animais foram mensurados durante todo o período experimental.

### *Adaptação na esteira*

Todos os animais foram submetidos à adaptação em esteira rolante (Insight<sup>®</sup> modelo ET2000)<sup>30</sup>. O protocolo foi constituído por uma sessão diária de exercício com carga fixa e leve (16 cm/s) e duração progressiva, incrementada diariamente, pelo período de uma semana. Assim, iniciou-se com 10 minutos e seu término se deu com 20 minutos. Após o último dia de adaptação, os animais tiveram um descanso mínimo de 24 horas antes da realização do primeiro teste de esforço realizado com o objetivo de avaliar a potência aeróbia dos animais.

### *Teste de esforço máximo*

O teste de esforço também foi realizado em todos os animais, em esteira própria para roedores (Panlab<sup>®</sup> modelo LE8700CTS Treadmill, Barcelona – Espanha), acoplada a um analisador de trocas gasosas (Harvard Apparatus<sup>®</sup>, modelo LE405 Gaz Analyser). Foi adotado um protocolo que iniciou com intensidade leve (10 cm/s) por 5 minutos, sendo incrementado 9 cm/s a cada 3 minutos até a fadiga do animal<sup>31</sup>. Para evitar aumento da carga de estresse no

animal, o teste de esforço foi realizado sem estímulos externos, e foi encerrado no momento que o animal atingiu a fadiga. A fadiga foi definida como o momento no qual o animal já não sustentava a velocidade do teste (o animal apoiava seus membros traseiros na plataforma fixa enquanto os dianteiros ficavam sobre a esteira).

A velocidade máxima atingida no teste ( $V_{\text{pico}}$ ) caracterizou a potência aeróbia dos animais, e foi utilizada para determinar a velocidade de prescrição do treinamento. Objetivando um treinamento de intensidade moderada, foi prescrita 60% da  $V_{\text{pico}}$ . Considerando que no teste de esforço os animais apresentaram um rendimento homogêneo atingindo  $V_{\text{pico}}$  de 64 cm/s, a velocidade prescrita para o treinamento foi de ~38cm/s. Vale destacar que este mesmo teste de esforço foi repetido, em todos os animais, ao término das 8 semanas do protocolo proposto.

#### *Treinamento aeróbio contínuo de intensidade moderada*

Para os grupos treinados (NTG Ex e CIII Ex), o treinamento foi realizado em dias alternados, 3 vezes por semana, sempre após as 17 horas (devido ao fato de os animais utilizados nesse modelo experimental apresentarem hábitos noturnos). Cada sessão apresentou duração total de 44 minutos subdivididos em 2 minutos de aquecimento (16 cm/s), 40 minutos de treino (38 cm/s) e 2 minutos de volta à calma (16 cm/s). Todas as sessões de treinamento foram realizadas em esteira adaptada para roedores de pequeno porte (Inbrasport® modelo ATL 32X23), com controle eletrônico de velocidade. Foi utilizado como único critério de exclusão do estudo, a desistência dos animais em mais do que cinco sessões de treinamento.

Para garantir a melhor performance e a segurança dos animais durante o treinamento, foi inserida uma pequena bolinha de plástico no fundo de cada raia individual. Assim, ao atingir a região final da esteira, os animais tocavam a bolinha e eram incentivados a voltar ao início da esteira.

#### *Eutanásia e coleta de tecidos*

Ao término do último teste de esforço, os animais descansaram por 24 horas com livre acesso à água e ração. Posteriormente, após um período de 12 horas de jejum, foram submetidos a nova coleta de sangue caudal (100  $\mu\text{L}$ ) para dosagens bioquímicas de TG, COL e glicose. Em seguida, os animais foram anestesiados individualmente em câmara de eutanásia preenchida com fluxo do gás anestésico Isoflurano (Isoforine®), onde permaneceram por aproximadamente 1 minuto para garantir um estado de inconsciência e a não percepção da dor. Após, os animais foram exsanguinados (via retro orbital; utilizando um capilar heparinizado para coleta do sangue total) e toracotomizados para a extração do coração.

#### *Coleta do coração*

A remoção cirúrgica do coração foi realizada por meio de uma incisão sobre os grandes vasos da base do órgão. Imediatamente, o coração foi perfundido com solução de Tampão Fosfato Salino (PBS 0,1 M; pH 7,4) para completa remoção do sangue alojado nas câmaras cardíacas e foi pesado em uma balança analítica (Shimadzu®). A perfusão foi realizada injetando PBS no tecido miocárdico (ventrículo esquerdo) com o auxílio de seringa (BD®; 10 ml) e agulha (BD®; 25x7). Posteriormente, o coração foi fixado em paraformaldeído a 4% durante 48 horas, e armazenado em álcool a 70% até o emblocamento em parafina<sup>32</sup>.

#### *Emblocamento e corte*

Inicialmente, o coração foi submetido a um processamento histológico que o preparou para que cortes semi-seriados de 5  $\mu\text{m}$  de espessura fossem feitos utilizando um micrótomo (LEICA RM 2145®). Os cortes foram realizados no sentido transversal do órgão, na direção

ápice-base e apenas os cortes acima do septo atrioventricular foram utilizados, ou seja, cortes da base dos átrios até os vasos sanguíneos do hilo cardíaco<sup>33-34</sup>.

Foram montadas 3 lâminas histológicas com 5 cortes de cada animal (totalizando 15 cortes/animal). Todas as lâminas foram submetidas à coloração de hematoxilina-eosina (HE). Com o auxílio de um *software* de análise histológica (Image Pró-Plus<sup>®</sup>) e a partir de microfotografias realizadas na objetiva de 20x, foi realizada a descrição da localização do plexo cardíaco. Adicionalmente, foram descritas as principais características morfológicas do plexo e foram feitas análises morfométricas tanto do plexo cardíaco (por meio da mensuração de 100 neurônios de cada animal) quanto do tecido adiposo epicárdico.

### Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Para comparação do efeito das variáveis independentes (treinamento e hipertrigliceridemia), utilizou-se a análise de variância (ANOVA *two way*) seguida do pós-teste de Tukey para comparação entre os grupos. Dados com distribuição normal foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

## Resultados

### Massa corporal, massa cardíaca, triglicerídeos, colesterol e glicemia

Os animais CIII apresentaram elevadas concentrações plasmáticas de TG e COL quando comparados aos animais NTG (confirmando seus genótipos), conforme recente publicação do nosso grupo de pesquisa<sup>28</sup>. Os animais CIII Ex tiveram redução desses níveis quando comparados aos do grupo CIII Sed (Tabela 1). No entanto, a massa corporal, a massa cardíaca e a glicemia não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

**Tabela 1** – Massa corporal, massa cardíaca, dosagens bioquímicas de triglicerídeo, colesterol e glicose plasmática dos grupos NTG Sed, NTG Ex, CIII Sed, e CIII Ex

	Dados por grupo (média $\pm$ DP)				Variação		
	NTG Sed	NTG Ex	CIII Sed	CIII Ex	Dislipidemia	Exercício	Interação
<b>Massa corporal (g)</b>	25,9 $\pm$ 1,1	26,5 $\pm$ 2,1	26,1 $\pm$ 0,3	25,2 $\pm$ 2,3	ns	ns	ns
<b>Massa cardíaca (g)</b>	0,17 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,01	ns	ns	ns
<b>Triglicerídeo (mg/dL)</b>	67 $\pm$ 14	61 $\pm$ 10	562 $\pm$ 163	362 $\pm$ 58	<0.0001	<0.05	<0.05
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	164 $\pm$ 44,1 <sup>a</sup>	174 $\pm$ 42 <sup>a</sup>	248 $\pm$ 35	166 $\pm$ 57 <sup>a</sup>	<0.05	<0.05	<0.05
<b>Glicemia (mg/dL)</b>	87,8 $\pm$ 9,3	85 $\pm$ 11	90 $\pm$ 13	96 $\pm$ 10	ns	ns	ns

**Nota:** Média  $\pm$  desvio padrão. ANOVA Two-way e pós teste de Tukey. a= p<0,05 no pós-teste de Tukey vs. CIII Sed.

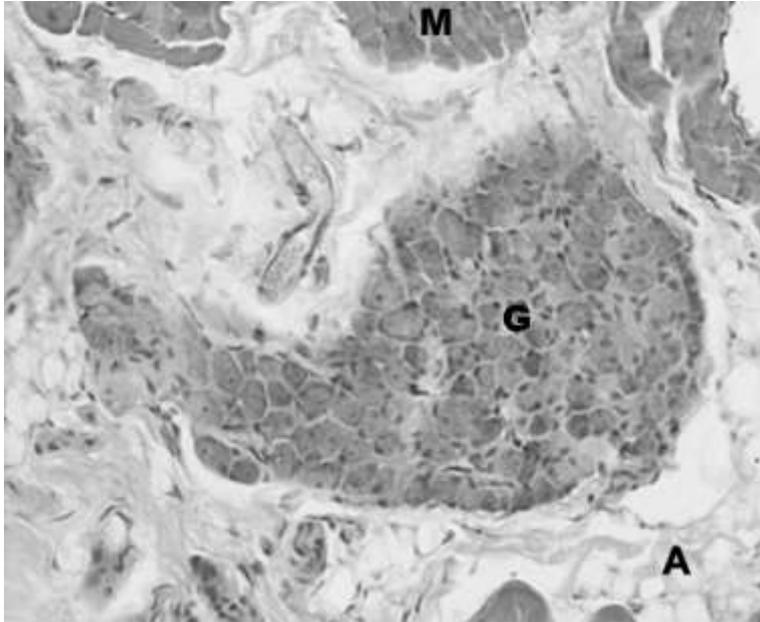
**Fonte:** Autores + adaptado<sup>28</sup>).

### Localização e características morfológicas do plexo cardíaco

Os gânglios que compõem o plexo cardíaco mostraram-se localizados entre o miocárdio e o tecido adiposo disposto próximo à base do coração, onde se encontram as raízes dos grandes vasos da base deste órgão.

Em relação às características morfológicas, os gânglios do plexo cardíaco mostraram-

se variáveis em termos de formas e tamanhos. Ademais, a coloração com HE evidenciou neurônios ovalados e com núcleos descentralizados (Figura 1).



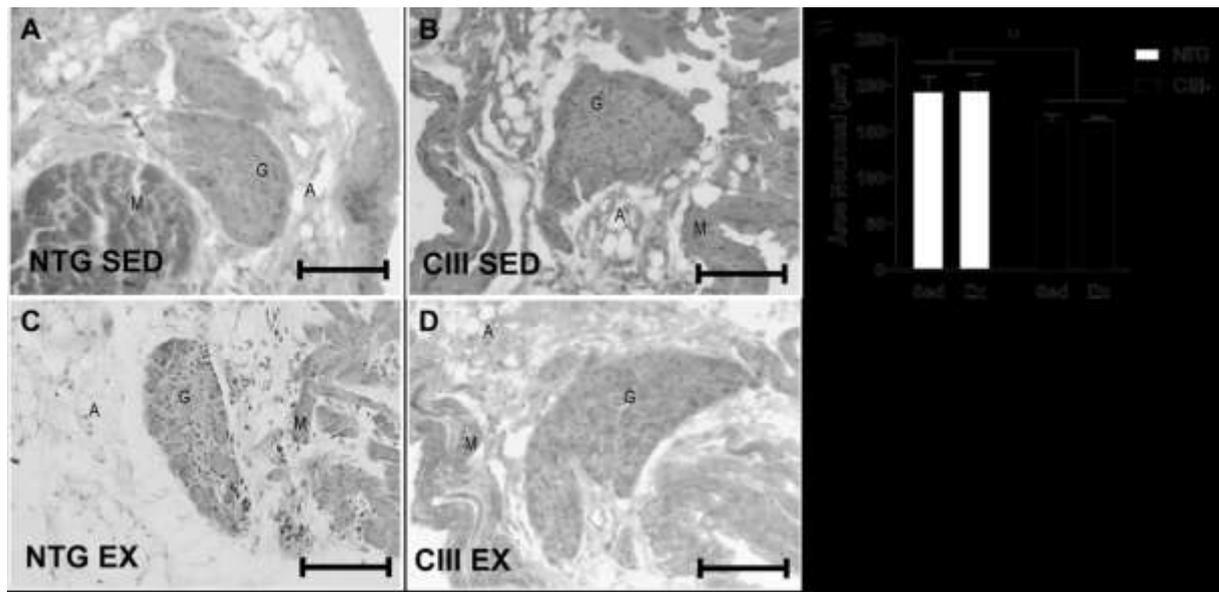
**Figura 1.** Visão geral da morfologia do plexo cardíaco

**Nota:** Fotomicrografia obtida com lente objetiva de 20x e coloração com hematoxilina-eosina (HE). Corte transversal da região basal cardíaca, próxima à emergência dos grandes vasos, evidenciando um gânglio do plexo cardíaco. A (tecido adiposo), G (gânglio), M (miocárdio)

**Fonte:** Autores

#### *Análise morfométrica do plexo cardíaco*

Na análise de variância ANOVA, os dados mostraram que todos os animais CIII tiveram área neuronal significativamente menor que os NTG ( $p=0,01$ ): NTG Sed  $193\pm 38 \mu\text{m}^2$ , CIII Sed  $161\pm 11 \mu\text{m}^2$ , NTG Ex  $194\pm 45 \mu\text{m}^2$  e CIII Ex  $160\pm 19 \mu\text{m}^2$ . Entretanto, o treinamento físico não foi capaz de modificar esse parâmetro (Figura 2).



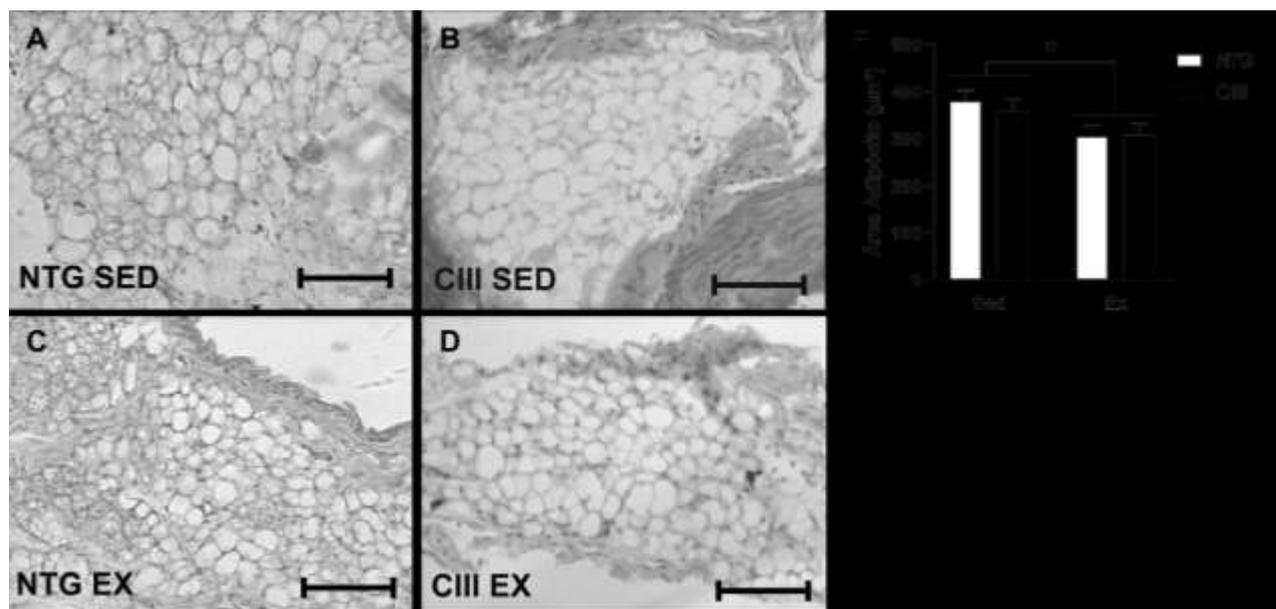
**Figura 2.** Fotomicrografias do plexo cardíaco dos camundongos.

A: grupo NTG Sed (n=8); B: grupo CIII Sed (n=8); C: grupo NTG Ex (n=6); D: grupo CIII Ex (n=5). E = Média ± desvio padrão. Anova two-way com pós teste de Tukey. (\*)  $p < 0,05$  para superexpressão da apoCIII no teste ANOVA. A (tecido adiposo), G (gânglio), M (miocárdio).

Fonte: Autores

#### *Análise morfológica do tecido adiposo epicárdico*

A histologia do tecido adiposo epicárdico evidenciou que a hipertrigliceridemia não alterou a área dos adipócitos em nenhum dos grupos (NTG Sed  $380 \pm 60 \mu\text{m}^2$ ; CIII Sed  $358 \pm 58 \mu\text{m}^2$ ; NTG Ex  $305 \pm 52 \mu\text{m}^2$ ; CIII Ex  $307 \pm 57 \mu\text{m}^2$ ). Entretanto, a análise de variância identificou que os grupos treinados tiveram uma menor área de adipócito do TAE, independentemente da superexpressão da apoCIII ( $p=0,03$ ).



**Figura 3.** Fotomicrografias do tecido adiposo epicárdico dos camundongos.

**Nota:** **A** = grupo NTG Sed (n=8); **B** = grupo CIII Sed (C, n=8); **C** = grupo NTG Ex (n=6); **D** = grupo CIII Ex (n=5). **E** = Média  $\pm$  desvio padrão. ANOVA Two-way com pós teste de Tukey. (\*)  $p < 0,05$  para variável exercício no teste ANOVA.

**Fonte:** Autores.

## Discussão

Este estudo inova em relacionar a morfologia do plexo cardíaco e do tecido adiposo epicárdico (TAE) de camundongos transgênicos para a apolipoproteína CIII humana, utilizando um método de treinamento aeróbico contínuo de intensidade moderada (MICT). A fim de aprimorar o conhecimento a respeito de um possível efeito do exercício sobre tais variáveis, foram realizadas análises bioquímicas acerca do metabolismo lipídico e glicêmico, análises morfológicas e morfométricas dos neurônios dos gânglios do plexo cardíaco e da morfometria do TAE, um importante componente da regulação metabólica e fisiopatológica do coração.

Este estudo denotou que a superexpressão da apoCIII não modificou a glicemia, a massa corporal e cardíaca dos animais. Embora o treinamento predisponha o aumento no consumo alimentar<sup>28</sup>, todos os grupos tiveram livre acesso à água e à ração, e todos os animais apresentavam a mesma idade na ocasião da eutanásia. Assim, tal resultado está em concordância com a literatura<sup>14</sup> a qual aponta para o fato de que o camundongo CIII apresenta a massa cardíaca equivalente ao seu controle NTG.

Em estudo prévio produzido por nosso grupo de pesquisa<sup>28</sup>, as análises bioquímicas confirmaram o genótipo deste modelo animal. Além de identificar um quadro de hipertrigliceridemia causada pela superexpressão da apoCIII humana nos animais CIII, também foi constatada a presença de hipercolesterolemia (colesterol total  $> 200$  mg/dL). Ademais, com a aplicação do MICT, o grupo CIII apresentou TG e COL cerca de 30% menor do que o grupo controle sedentário. Tal efeito indica uma adaptação fisiológica dos animais CIII ao treinamento ocasionada pela hidrólise dos TG e a beta-oxidação dos ácidos graxos presentes nas VLDL e quilomícrons<sup>35</sup>.

A análise morfológica do plexo cardíaco bem como da sua localização nestes animais mostrou que nossos achados estão de acordo com a descrição da literatura atualmente vigente, uma vez que os gânglios foram evidenciados na região da emergência dos grandes vasos da

base do coração, entre os tecidos muscular e adiposo. Ademais, seus neurônios apresentaram-se em formato ovalado e com a presença de núcleos descentralizados e ocasionalmente multinucleados<sup>14,16,36</sup>.

Adicionalmente, evidenciou-se um efeito isolado da superexpressão da apoCIII uma vez que a análise morfométrica dos neurônios do plexo cardíaco mostrou que a área neuronal dos animais CIII foi significativamente menor, de modo independente da realização do treinamento físico. Contraditoriamente aos nossos achados, um estudo<sup>14</sup> com camundongos CIII de oito e 12 meses de idade constatou que apenas os camundongos mais velhos tiveram alteração da área neuronal (que se apresentou maior), evidenciando o efeito do envelhecimento de modo independente da superexpressão da apoCIII. Essa contradição denota que os mecanismos fisiológicos que envolvem a modificação da área neuronal por meio da hipertrigliceridemia ainda seguem controversos e necessitam de maiores elucidações. Entretanto, evidências apontam que não apenas o envelhecimento pode estar diretamente ligado a esses mecanismos, mas também problemas metabólicos<sup>14</sup>. Em concordância a esta hipótese foi visto que, em outros modelos animais com alterações metabólicas (como ratos portadores de diabetes *mellitus* induzida laboratorialmente), houve redução da área neuronal associada a um remodelamento da morfologia do plexo cardíaco<sup>33</sup>.

Avaliando o efeito do treinamento sobre a morfologia do plexo cardíaco, os dados obtidos neste estudo mostraram que as oito semanas de MICT não modificaram a área neuronal de forma significativa em nenhum dos grupos treinados, independentemente da superexpressão da apoCIII. Por outro lado, um estudo<sup>26</sup> que avaliou o plexo cardíaco de ratos em condição de treinamento físico observou que o MICT (aplicado cinco vezes por semana, durante 10 meses) reduziu a área neuronal. Segundo os autores, a adaptação causada pelo treinamento foi positiva e protegeu o plexo cardíaco dos efeitos degenerativos do envelhecimento, uma vez que neurônios pequenos têm um limiar excitatório menor do que neurônios grandes, tendo assim maior excitabilidade.

A partir do exposto, observa-se que a relação entre o plexo cardíaco e o treinamento físico ainda não é totalmente conclusiva. Isso porque, apesar de alguns fatores moduladores desta importante estrutura cardíaca já serem bem descritos (como idade e cardiopatias)<sup>16-18</sup>, os mecanismos capazes de explicar a modulação do plexo a partir do exercício ainda precisam de investigações mais esclarecedoras. Adicionalmente, o MICT requer ainda maior atenção diferenciando-o de outras modalidades de treinamento pois, embora haja evidência de que ele é capaz de promover alterações morfológicas no plexo, ainda não são claros os mecanismos envolvidos e a relação entre volume e intensidade necessárias para promover tais adaptações.

A morfometria do tecido adiposo epicárdico (TAE), apresentou-se preservada e sem diferença significativa para o efeito da superexpressão da apoCIII. Desta forma, embora este modelo experimental esteja relacionado à predisposição da obesidade<sup>37</sup>, o TAE manteve-se conservado, mesmo sob condições de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. Em estudo anterior<sup>16</sup> produzido por nosso grupo de pesquisa utilizando animais sedentários, foi observado que os camundongos CIII apresentaram maior área dos adipócitos do TAE do que animais NTG. Além disso, a área destes adipócitos foi maior com o envelhecimento (animais de oito e 12 meses foram comparados). Tal diferença nos achados pode decorrer do efeito modulador que o envelhecimento causa sobre o TAE, uma vez que os animais do presente estudo tinham 15 meses, ou seja, eram de meia idade<sup>38</sup>. Assim, é possível que haja de fato algum mecanismo ainda não descrito capaz de correlacionar a morfologia deste tecido ao envelhecimento visto neste modelo animal.

Em contrapartida, o treinamento físico reduziu a área dos adipócitos do TAE. Este efeito está em concordância com a literatura atual, pois o exercício pode efetivamente causar

remodelamento do tecido adiposo<sup>39</sup>. Além disso, estudo prévio<sup>28</sup> do nosso grupo acerca do tecido adiposo visceral (perigonadal) mostrou que o MICT foi capaz de reduzir a área de tal gordura. Vale ressaltar que esse efeito também já foi descrito em outros modelos animais como, por exemplo, em ratos recebendo diferentes tipos de dieta<sup>40</sup>.

A principal limitação deste estudo foi o próprio estabelecimento do modelo experimental, haja vista sua complexidade e dificuldade na replicação da colônia apoCIII, uma vez que os camundongos foram cruzados entre si. Ademais, em conformidade aos critérios de exclusão ao protocolo de treinamento, os animais que não concluíram pelo menos 80% do protocolo foram excluídos da análise final. Assim, devido aos desafios enfrentados pelo treinamento, o tamanho da amostra foi reduzido de 10 animais para 5 no grupo CIII Ex e 6 animais no grupo NTG Ex.

## Conclusão

Conclui-se assim que a hipertrigliceridemia gerada pela superexpressão de apoCIII não modificou a glicemia, as massas corporal e cardíaca, e a área dos adipócitos do tecido adiposo epicárdico dos animais. Entretanto, os animais CIII apresentaram menor área dos neurônios ganglionares do plexo cardíaco. Adicionalmente, o treinamento aeróbico contínuo de intensidade moderada não modificou a morfometria dos neurônios do plexo cardíaco, mesmo sendo capaz de diminuir TG e COL sanguíneo. Ademais, reduziu a área dos adipócitos do TAE, independentemente da dislipidemia causada pela superexpressão da apoCIII.

Conclui-se, portanto, que mais estudos são necessários a fim de elucidar as lacunas a respeito dos mecanismos que modificam os neurônios do plexo cardíaco a partir do treinamento físico, assim como a relação existente entre as diferentes modalidades, volumes e intensidades do treinamento nessas mesmas condições experimentais.

## Referências

1. Bull FC, Al-Ansari SS, Biddle S, Borodulin K, Buman MP, Cardon G, et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med.* 2020;54:1451-62. DOI: 10.1136/bjsports-2020-102955.
2. Carson V, Lee E-Y, Hewitt L, Jennings C, Hunter S, Kuzik N, et al. Systematic review of the relationships between physical activity and health indicators in the early years (0-4 years). *BMC Public Health.* 2017;17:854. DOI: 10.1186/s12889-017-4860-0
3. Poitras VJ, Gray CE, Borghese MM, Carson V, Chaput J-P, Janssen I, et al. Systematic review of the relationships between objectively measured physical activity and health indicators in school-aged children and youth. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016;41. DOI: 10.1139/apnm-2015-0663.
4. Chen W, Hammond-Bennett A, Hypnar A, Mason S. Health-related physical fitness and physical activity in elementary school students. *BMC Public Health.* 2018;18:195. DOI: 10.1186/s12889-018-5107-4
5. Gomes TN, Katzmarzyk PT, Hedeker D, Fogelholm M, Standage M, Onywera V, et al. Correlates of compliance with recommended levels of physical activity in children. *Sci Rep.* 2017;7:16507. DOI: 10.1038/s41598-017-16525-9.
6. Henriksson P, Leppänen MH, Henriksson H, Delisle Nyström C, Ortega FB, Rautiainen S, et al. Physical fitness in relation to later body composition in pre-school children. *J Sci Med Sport.* 2019;22:574-9. DOI: 10.1016/j.jsams.2018.11.024.
7. Reisberg K, Riso E, Jürimäe J. Associations between physical activity, body composition, and physical fitness in the transition from preschool to school. *Scand J Med Sci Sports.* 2020;30:2251-63. DOI: 10.1111/sms.13784.
8. Migueles JH, Delisle Nyström C, Dumuid D, Mora-Gonzalez J, Cadenas-Sanchez C, Ekelund U, et al. Longitudinal associations of movement behaviours with body composition and physical fitness from 4 to 9 years of age: structural equation and mediation analysis with compositional data. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2023;20:11. DOI: 10.1186/s12966-023-01417-1.

9. Biddle SJ, Asare M. Physical activity and mental health in children and adolescents: a review of reviews. *Br J Sports Med.* 2011;45:886-95. DOI: 10.1136/bjsports-2011-090185.
10. Lees C, Hopkins J. Effect of aerobic exercise on cognition, academic achievement, and psychosocial function in children: a systematic review of randomized control trials. *Prev Chronic Dis.* 2013;10. DOI: 10.5888/pcd10.130010. DOI: 10.5888/pcd10.130010.
11. Martin A, Saunders DH, Shenkin SD, Sproule J, Kirk A. Lifestyle intervention for improving school achievement in overweight or obese children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014. DOI: 10.1002/14651858.CD009728.pub4..
12. Sallis JF. Age-related decline in physical activity: a synthesis of human and animal studies. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:1598-600. DOI: 10.1097/00005768-200009000-00012.
13. Singh A, Uijtdewilligen L, Twisk JW, van Mechelen W, Chinapaw MJ. Physical activity and performance at school: a systematic review of the literature including a methodological quality assessment. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012;166:49-55. DOI: 10.1001/archpediatrics.2011.716.
14. Van Dijk ML, De Groot RH, Savelberg HH, Van Acker F, Kirschner PA. The association between objectively measured physical activity and academic achievement in Dutch adolescents: findings from the GOALS study. *J Sport Exerc Psychol.* 2014;36:460-73. DOI: 10.1123/jsep.2014-0014.
15. Gibson CA, Smith BK, DuBose KD, Greene JL, Sullivan DK, Washburn RA, et al. Physical activity across the curriculum: year one process evaluation results. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2008;5:1-11. DOI: 10.1186/1479-5868-5-36.
16. Whitt-Glover MC, Ham SA, Yancey AK. Instant Recess®: a practical tool for increasing physical activity during the school day. *Prog Community Health Partnersh Res Educ Action.* 2011;5:289-97. DOI: 10.1353/cpr.2011.0031.
17. Watson A, Timperio A, Brown H, Best K, Hesketh KD. Effect of classroom-based physical activity interventions on academic and physical activity outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2017;14:1-24. DOI: 10.1186/s12966-017-0569-9.
18. Taras H. Physical activity and student performance at school. *J Sch Health.* 2005;75:214-18. DOI: 10.1111/j.1746-1561.2005.00026.x.
19. Trudeau F, Shephard RJ. Physical education, school physical activity, school sports and academic performance. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2008;5:1-12. DOI: 10.1186/1479-5868-5-10.
20. Gába A, Baďura P, Vorlíček M, Suchomel A, Rubín L. The Czech Republic's 2022 Report Card on Physical Activity for Children and Youth: A rationale and comprehensive analysis. *J Exerc Sci Fit.* 2022;20:340-8. DOI: 10.1016/j.jesf.2022.08.002.
21. Hu D, Zhou S, Crowley-McHattan ZJ, Liu Z. Factors that influence participation in physical activity in school-aged children and adolescents: a systematic review from the social ecological model perspective. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18:3147. DOI: 10.3390/ijerph18063147.
22. Petersen TL, Møller LB, Brønd JC, Jepsen R, Grøntved A. Association between parent and child physical activity: a systematic review. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2020;17:1-16. DOI: 10.1186/s12966-020-00966-z.
23. Trost SG, Loprinzi PD. Parental influences on physical activity behavior in children and adolescents: a brief review. *Am J Lifestyle Med.* 2011;5:171-81. DOI:10.1177/1559827610387236.
24. Bauman AE, Reis RS, Sallis JF, Wells JC, Loos RJ, Martin BW, et al. Correlates of physical activity: why are some people physically active and others not? *The Lancet.* 2012;380:258-71. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60735-1.
25. Pugliese J, Tinsley B. Parental socialization of child and adolescent physical activity: a meta-analysis. *J Fam Psychol.* 2007;21:331-43. DOI: 10.1037/0893-3200.21.3.331
26. Faria TO, Mello LG, Pinto GC, Vassallo DV, Lizardo JF. Uma Única Sessão de Exercício Resistido Melhora a Função Endotelial Aórtica em Ratos Hipertensos. *Arq Bras Cardiol.* 2017;108(3):228-36. DOI: 10.5935/abc.20170023.
27. Silvestre R, Kraemer WJ, Quann EE, Seip RL, Maresh CM, Vingren JL, et al. Effects of exercise at different times on postprandial lipemia and endothelial function. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40(2):264-74. DOI: 10.1249/mss.0b013e31815c485a.
28. Teixeira Junior N, Jimenes D, Schultz C, Almeida D, Mathias P, Berti J. Moderate-intensity continuous training reduces triglyceridemia and improves oxygen consumption in dyslipidemic apoCIII transgenic mice. *Braz J Med Biol Res.* 2024;57. DOI: 10.1590/1414-431X2024e13202
29. Salerno AG, Silva TR, Amaral ME, Alberici LC, Bonfleur ML, Patrício PR, et al. Overexpression of apolipoprotein CIII increases and CETP reverses diet-induced obesity in transgenic mice. *Int J Obes (Lond).* 2007;31(10):1586-95. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803646

30. Moreira VM, da Silva Franco CC, Prates KV, Gomes RM, de Moraes AM, Ribeiro TA, et al. Aerobic Exercise Training Attenuates Tumor Growth and Reduces Insulin Secretion in Walker 256 Tumor-Bearing Rats. *Front Physiol.* 2018;9:465. DOI: 10.3389/fphys.2018.00465.
31. Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1978;45(6):1009-15. DOI: 10.1152/jappl.1978.45.6.1009.
32. Batulevicius D, Pauziene N, Pauza DH. Topographic morphology and age-related analysis of the neuronal number of the rat intracardiac nerve plexus. *Ann Anat.* 2003;185(5):449-59. DOI: 10.1016/S0940-9602(03)80105-X.
33. Batulevicius D, Frese T, Peschke E, Pauza DH, Batuleviciene V. Remodelling of the intracardiac ganglia in diabetic Goto-Kakizaki rats: an anatomical study. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:85. DOI: 10.1186/1475-2840-12-85.
34. Behmer OA, Tolosa EM, Freitas-Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Manole; 1976.
35. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):132. DOI: 10.1186/s12944-017-0515-5.
36. Aksu T, Gopinathannair R, Gupta D, Pauza DH. Intrinsic cardiac autonomic nervous system: What do clinical electrophysiologists need to know about the "heart brain"? *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2021 Jun;32(6):1737-47. DOI: 10.1111/jce.15058.
37. Raposo HF, Paiva AA, Kato LS, de Oliveira HC. Apolipoprotein CIII overexpression exacerbates diet-induced obesity due to adipose tissue higher exogenous lipid uptake and retention and lower lipolysis rates. *Nutr Metab (Lond).* 2015;12:61. DOI: 10.1186/s12986-015-0058-6.
38. Fox JG, Barthold SW, Davisson MT, Newcomer CE, Quimby FW, Smith AL, eds. *The Mouse in Biomedical Research: Normative Biology, Husbandry, and Models.* 2nd ed. San Diego, CA: Elsevier; 2007.
39. Pedersen BK, Kellis M, Middelbeek RJ, Goodyear LJ. Exercise training remodels inguinal white adipose tissue through adaptations in innervation, vascularization, and the extracellular matrix. *Cell Rep.* 2023 Apr 25;42(4):112392. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112392.
40. Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, Goodyear LJ. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 Aug;297(2). DOI: 10.1152/ajpendo.90424.2008.

**Agradecimentos** À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Helena Coutinho Franco de Oliveira (Departamento de Fisiologia - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP) pela doação dos camundongos transgênicos C57Bl/6 que expressam a apolipoproteína CIII humana, utilizados para estabelecer a colônia no Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Maringá (DFS-UEM).

#### ORCID

Nilton Rodrigues Teixeira Junior: <https://orcid.org/0000-0002-2015-7027>

Bruno Jun Komagome: <https://orcid.org/0009-0006-4768-5547>

Diogo Rodrigues Jimenes: <https://orcid.org/0000-0002-1862-9275>

Cristiany Schultz: <https://orcid.org/0000-0003-3725-4621>

Carmem Patricia Barbosa: <https://orcid.org/0000-0002-8227-5993>

Jairo Augusto Berti: <https://orcid.org/0000-0002-4142-6601>

**Editora:** Lucieli Teresa Cambri.

Recebido em 16/05/2024.

Revisado em 23/07/2024.

Aceito em 30/07/2024.

---

**Autor para correspondência:** Nilton Rodrigues Teixeira Junior. Email: [nilton98rodrigues@gmail.com](mailto:nilton98rodrigues@gmail.com)