

**EFEITO DA OBESIDADE E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO SOBRE O PERFIL
LIPÍDICO TESTICULAR EM CAMUNDONGOS**

KAREN CASTILLO QUINTANA



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS**

EFEITO DA OBESIDADE E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO SOBRE O PERFIL LIPÍDICO TESTICULAR EM CAMUNDONGOS

KAREN CASTILLO QUINTANA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Weber Beringui Feitosa

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná
2026

KAREN CASTILLO QUINTANA

**EFEITO DA OBESIDADE E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO SOBRE O PERFIL
LIPÍDICO TESTICULAR EM CAMUNDONGOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Weber Beringui Feitosa

Orientador

Programa de Pós-Graduação em Biociências - UNILA

Prof.^a Dr.^a Luciana Chagas Caperuto

Examinadora

Universidade Federal de São Paulo.

Prof. Dr. Jean Franciesco Vettorazzi

Examinador

Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza.

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 28 de agosto de 2026.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

Q7e

Quintana, Karen Castillo.

Efeito da obesidade e do exercício físico resistido sobre o perfil lipídico testicular em camundongos / Karen Castillo Quintana. - Foz do Iguaçu - PR, 2026.
75 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu-PR, 2026.
Orientador: Weber Beringui Feitosa.

1. Obesidade. 2. Exercício físico. 3. Metabolismo lipídico. 4. Infertilidade masculina. 5. Camundongos. I. Feitosa, Weber Beringui. II. Título.

CDU 591.1

Dedico este trabalho à minha família, que sempre esteve ao meu lado e foi o meu maior alicerce. Às minhas amizades, por sempre me ouvirem e me apoiarem incondicionalmente. Aos meus colegas de mestrado, pela parceria que me ajudou a superar os momentos mais difíceis desta jornada. E aos meus professores, por todos os ensinamentos e pela dedicação à ciência.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jean e à minha colega Jéssica, os primeiros a quem devo meus mais profundos agradecimentos, por terem tornado este projeto possível. Expresso minha imensa gratidão por todo o trabalho árduo no manejo dos camundongos. Foi o esforço de vocês na condução dessa etapa fundamental que gerou a base deste trabalho e viabilizou a coleta e análise do tecido testicular. Sem essa parceria, esta pesquisa não existiria.

A toda a equipe da Reprodunila, meu sincero agradecimento pelo trabalho conjunto durante as coletas de material e pelo auxílio nas análises de imunofluorescência e por fazerem parte de minha jornada acadêmica. Estendo um agradecimento muito especial à Profa. Dra. Aline e à minha colega Luana, pela parceria e orientação inestimáveis na etapa de cromatografia. A colaboração técnica de vocês foi essencial para a concretização desta pesquisa.

Às amigas e colegas incríveis que o mestrado me trouxe: Beatriz Madeira, Camila Kessler e tantas outras pessoas queridas que dividiram o laboratório e a vida comigo. Muito obrigada por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis, que não foram poucos. Agradeço por terem ouvido meus desabafos, por me acolherem nos dias em que me senti mal e por me incentivarem incansavelmente a não desistir. A meu pai pelo acolhimento e suporte diário e a minha família como um todo, muito obrigada por acreditarem em mim. Aos meus amigos da vida, que estiveram sempre comigo, vibrando a cada etapa concluída. Vocês foram a rede de apoio que tornou essa jornada possível e muito mais leve.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, em especial ao Erwin, que, mesmo não estando mais no programa, desempenhou um papel de imensa importância na nossa trajetória. Agradeço por sempre ter feito de tudo para nos oferecer o melhor suporte, por esclarecer nossas dúvidas com toda a paciência e por nos ajudar em todas as etapas, desde as burocracias até o preenchimento dos nossos currículos. Sua presença e dedicação sempre fizeram toda a diferença para nós.

Por fim, e de extrema importância, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos durante os meus dois anos de mestrado. Vocês foram meus maiores financiadores e esse apoio foi fundamental para que eu pudesse me dedicar ao programa, fazendo uma diferença gigantesca na minha trajetória e na conclusão desta pesquisa.

“Aquilo que não nos mata nos torna mais fortes.”

- F. Nietzsche, 1889

QUINTANA, Karen Castillo. 2026. **Efeito da obesidade e do exercício físico resistido sobre o perfil lipídico testicular em camundongos**. Orientadores: FEITOSA, Weber Beringui (orientador). 75 páginas f.. Dissertação (Mestrado) - PPG-BC (Programa de Pós-Graduação em Biociências), UNILA (Universidade Federal da Integração Latino-Americana), Foz do Iguaçu.

RESUMO

A obesidade é um fator de risco reconhecido para a infertilidade masculina, comprometendo a esteroidogênese e a espermatogênese por mecanismos que incluem disfunção mitocondrial, alterações na homeostase do retículo endoplasmático e desregulação do metabolismo lipídico testicular. O exercício físico, sobretudo o de resistência, tem se mostrado capaz de reduzir o estresse oxidativo e melhorar os parâmetros seminais e a integridade do DNA espermático em homens inférteis, seu papel específico como estratégia não farmacológica na atenuação dos efeitos da obesidade sobre a fertilidade masculina permanece pouco explorada. Este estudo avaliou o efeito da obesidade induzida por dieta hiperlipídica e do exercício físico resistido sobre parâmetros biométricos, morfométricos, moleculares e o perfil de ácidos graxos testiculares em camundongos C57BL/6, distribuídos em delineamento fatorial 2×2 (dieta × exercício) nos grupos controle (C), controle exercitado (CE), obeso (O) e obeso exercitado (OE). A obesidade aumentou o peso testicular absoluto, mas reduziu o índice gonadossomático, evidenciando que o crescimento da massa corporal não foi acompanhado proporcionalmente pelo crescimento da massa testicular; o exercício resistido atenuou parcialmente esse desequilíbrio no grupo obeso treinado. O diâmetro dos túbulos seminíferos e o número de espermatogônias não diferiram entre os grupos, indicando preservação da arquitetura tubular básica. A expressão da proteína BiP, reduzida nas células de Leydig e nas células tubulares dos animais obesos, foi parcialmente restaurada pelo exercício, sugerindo modulação da homeostase do retículo endoplasmático diante do estresse metabólico da obesidade. Na análise do perfil de ácidos graxos testiculares, composta por 37 ácidos graxos determinados por cromatografia gasosa, cinco apresentaram efeitos significativos da obesidade, do exercício e/ou da interação entre esses fatores: os ácidos tridecanoico (C13:0), pentadecanoico (C15:0), γ -linolênico (C18:3n-6), α -linolênico (C18:3n-3) e gadoleico (C20:1), evidenciando alterações seletivas na composição lipídica do tecido testicular. Em conjunto, os resultados indicam que a obesidade altera seletivamente a homeostase molecular e a composição de ácidos graxos do testículo, enquanto o exercício físico resistido atenua, de forma parcial e seletiva, essas alterações, reforçando seu potencial como estratégia não farmacológica para a modulação dos efeitos testiculares da obesidade.

Palavras-chave: Infertilidade masculina; metabolismo lipídico; espermatogênese; estresse do retículo endoplasmático; ácidos graxos.

QUINTANA, Karen Castillo. 2026. **Effect of obesity and resistance exercise on testicular lipid profile in mice**. Advisors: FEITOSA, Weber Beringui (advisor). 75 pages. Dissertation (Master's) - PPG-BC (Postgraduate Program in Biosciences), UNILA (Federal University of Latin American Integration), Foz do Iguaçu.

ABSTRACT

Obesity is a recognized risk factor for male infertility, compromising steroidogenesis and spermatogenesis through mechanisms that include mitochondrial dysfunction, alterations in endoplasmic reticulum homeostasis, and dysregulation of testicular lipid metabolism. While physical exercise, particularly resistance training, has been shown to reduce oxidative stress and improve seminal parameters and sperm DNA integrity in infertile men, its specific role as a non-pharmacological strategy to mitigate the effects of obesity on male fertility remains underexplored. This study evaluated the effects of high-fat diet-induced obesity and resistance exercise on biometric, morphometric, and molecular parameters, as well as the testicular fatty acid profile, in C57BL/6 mice. The animals were assigned to a 2×2 factorial design (diet × exercise) comprising four groups: control (C), exercised control (CE), obese (O), and exercised obese (OE). Obesity increased absolute testicular weight but reduced the gonadosomatic index, demonstrating that the increase in body mass was not proportionally matched by an increase in testicular mass; resistance exercise partially attenuated this imbalance in the trained obese group. Seminiferous tubule diameter and the number of spermatogonia did not differ among groups, indicating preservation of the basic tubular architecture. BiP protein expression, which was reduced in the Leydig cells and tubular cells of obese animals, was partially restored by exercise, suggesting modulation of endoplasmic reticulum homeostasis in the face of obesity-induced metabolic stress. In the analysis of the testicular fatty acid profile, comprising 37 fatty acids determined via gas chromatography, five showed significant effects of obesity, exercise, and/or the interaction between these factors: tridecanoic (C13:0), pentadecanoic (C15:0), γ-linolenic (C18:3n-6), α-linolenic (C18:3n-3), and gadoleic (C20:1) acids, demonstrating selective alterations in the lipid composition of testicular tissue. Taken together, the results indicate that obesity selectively alters molecular homeostasis and the fatty acid composition of the testis, whereas resistance exercise partially and selectively attenuates these changes, reinforcing its potential as a non-pharmacological strategy for modulating the testicular effects of obesity.

Keywords: Male infertility; lipid metabolism; spermatogenesis; endoplasmic reticulum stress; fatty acids.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Alterações no balanço entre gasto e consumo energético ao longo da epidemia de obesidade.	18
Figura 2. Representação esquemática da organização anatômica do testículo, epidídimo e ducto deferente.	24
Figura 3. Representação esquemática da espermatogênese, ilustrando a organização do túbulo seminífero e do interstício testicular.	26
Figura 4. Representação esquemática da biossíntese de testosterona a partir do acetato de colesterol.	30
Figura 5. Modelo gráfico do delineamento experimental.	39
Figura 6. Fotomicrografia de túbulo seminífero de camundongo corado por hematoxilina e eosina (HE) e processamento digital para análise histomorfométrica.	48
Figura 7. Fotomicrografia de túbulos seminíferos de camundongos corados com Oil Red O, evidenciando diferença na quantidade de gotículas lipídicas entre os grupos experimentais.	50
Figura 8. Análise por imunofluorescência da expressão da proteína BiP no tecido testicular de camundongos dos diferentes grupos experimentais.	52
Figura 9. Ácidos graxos testiculares com diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais.	54
Figura 10. Ácidos graxos testiculares sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais.	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Peso testicular absoluto de camundongos submetidos à obesidade e ao exercício físico.	46
Gráfico 2. Índice gonadossomático, representado pela relação entre o peso testicular e o peso corporal, nos diferentes grupos experimentais.....	47
Gráfico 3. Diâmetro dos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.	48
Gráfico 4. Número de espermatogônias nos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.	49
Gráfico 5. Quantificação das gotas lipídicas nos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.	51

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Fatores que ocasionam a obesidade	19
Tabela 2. Métodos de prevenção da Obesidade Individuais.....	22
Tabela 3. Peso corporal inicial, final e peso testicular individual dos camundongos nos diferentes grupos experimentais.....	45
Tabela 4. Valores de P do efeito da obesidade, do exercício condicionado e da interação entre ambos sobre o diâmetro dos túbulos seminíferos e do número de espermatogônias	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
ABP	Proteína de ligação a andrógenos
AIF	Fator indutor de apoptose
ANOVA	Análise de variância
AR	Receptor androgênico
ATF6	Fator de transcrição ativador 6
AVC	Acidente vascular cerebral
BSA	Albumina sérica bovina
C	Grupo controle
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CE	Grupo controle com exercício de resistência
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CG-DIC	Cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama
CHOP endoplasmático	Proteína homóloga a C/EBP induzida por estresse do retículo
CMCV	Capacidade máxima de carga voluntária
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CROMATO	Laboratório de Cromatografia e Preparo de Amostras
CYP11A1	Citocromo P450, família 11, subfamília A, membro 1
CYP17A1	Citocromo P450 17 α -monooxigenase
DAC	Doença arterial coronariana
DGLA	Ácido di-homo- γ -linolênico
DHA	Ácido docosahexaenoico
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ETE	Ácido eicosatrienoico
EUA	Estados Unidos da América
FAME	Éster metílico de ácido graxo
FSH	Hormônio folículo-estimulante
FTO	Gene associado à massa gorda e obesidade
GRP78	Proteína regulada por glicose 78 (BiP)
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hematoxilina-eosina
HHG	Eixo hipotálamo-hipófise-gônadas
HSD	Hidroxiesteroide desidrogenase
HSD3B2	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase
HSD17B3	17 β -hidroxiesteroide desidrogenase 3
IC	Insuficiência cardíaca
IGS	Índice gonadossomático
IMC	Índice de Massa Corporal
INCOR	Instituto do Coração
LC	Célula de Leydig
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LEIMAA Alimentos	Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e de
LH	Hormônio luteinizante
MC4R	Receptor de melanocortina-4
O	Grupo obeso

OE	Grupo obeso com exercício de resistência
ORO	Oil red O
P450scc	Enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol
PBS	Tampão fosfato-salino
PBS-T	Tampão fosfato-salino com Tween
PC	Células mioides peritubulares
PERK	Quinase do retículo endoplasmático semelhante à PKR
POMC	Proopiomelanocortina
PROAP	Programa de Apoio à Pós-Graduação
PTI	Parque Tecnológico Itaipu
RE	Retículo endoplasmático
PPG-BC	Programa de Pós-Graduação em Biociências
SC	Célula de Sertoli
SEM	Erro padrão da média
SHBG	Globulina ligante de hormônios sexuais
SIRT1	Sirtuína 1
SOP	Síndrome do Ovário Policístico
StAR	Proteína reguladora aguda esteroidogênica
TA	Tecido adiposo
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UPR	Resposta a proteínas mal-enoveladas (Unfolded Protein Response)
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Referencial teórico.....	16
1.1.1 Obesidade	16
1.1.2 Fertilidade masculina	22
1.1.3 Treino de resistência	33
1.2 Justificativa	36
1.3 Pergunta norteadora.....	37
1.4 Hipótese.....	37
2 OBJETIVOS	37
2.1 Geral.....	37
2.2 Específicos	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Comitê de ética	38
3.2 Modelo Experimental.....	38
3.2.1 Experimentação animal	38
3.2.2 Delineamento experimental	39
3.2.3 Dieta	39
3.2.4 Exercício de resistência	40
3.3 Metodologia empregada.....	40
3.3.1 Biometria corporal e testicular.....	40
3.3.2 Morfometria e densidade celular.....	41
3.3.3 Gotas de lipídio.....	42
3.3.4 Análise por imunofluorescência da expressão da proteína BiP	42
3.3.5 Perfil Lipídico	43
3.4 Análise estatística.....	44
4 RESULTADOS.....	45
4.1 Análise Biométrica e Parâmetros Gonadossomáticos	45
4.2 Morfometria testicular e densidade celular.....	47
4.3 Quantificação de gotas lipídicas por ORO	50
4.4 Expressão da Proteína BiP.....	51
4.5 Avaliação de perfil lipídico testicular por CG-DIC	53
5 DISCUSSÃO	57
5.1 Efeito da obesidade e do exercício sobre o peso testicular e índice gonadossomático.....	57
5.2 Ausência de efeito sobre a morfometria tubular e a população de espermatogônias ..	58
5.3 A obesidade e exercício não afetam a quantidade de gotas lipídicas nos túbulos seminíferos	58
5.4 Comprometimento da expressão da BiP em resposta à obesidade e sua atenuação pelo exercício.....	59
5.5 Efeito da obesidade e do exercício no perfil de ácidos graxos testiculares	61
6 CONCLUSÃO.....	64
7 FINANCIAMENTO.....	65
8 REFERÊNCIAS	65
ANEXOS.....	74
Anexo A – Certificado de curso de Iniciação em Ciência em Animais de Laboratório da FIOCRUZ.....	74
Anexo B – Protocolo de aprovação da CEUA	75

Anexo C – POP Determinação de Lipídios por GC FID 76**1 INTRODUÇÃO**

A obesidade é uma condição médica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal que se tornou cada vez mais prevalente em escala global, atingindo proporções epidêmicas (CATENACCI et al., 2009; OMS, 2024). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024), entre 1990 e 2022 a prevalência mundial de obesidade mais do que dobrou. Em 1990, cerca de 25% dos adultos com 18 anos ou mais apresentavam sobrepeso, proporção que subiu para 43% em 2022. Embora a obesidade seja multifatorial, o desequilíbrio entre ingestão energética e gasto calórico por meio da atividade física permanece como uma de suas principais causas (OMS, 2024).

Frequentemente associada a uma dieta desbalanceada, rica em carboidratos e gorduras e ao sedentarismo (SAN-CRISTOBAL et al., 2020), a obesidade aumenta o risco de diversas comorbidades, como dislipidemia e doenças relacionadas à síndrome metabólica, incluindo diabetes e hipertensão (APOVIAN et al., 2016), além de promover alterações hormonais. Embora historicamente a obesidade tenha sido vinculada principalmente à síndrome metabólica, sem associação direta com a saúde reprodutiva, evidências atuais demonstram que o sobrepeso e a obesidade influenciam negativamente a fertilidade tanto em homens quanto em mulheres (SEGULA, 2014; DE MOLA, 2009).

Embora os efeitos da obesidade sobre a fertilidade masculina ainda não sejam amplamente estudados, sabe-se que essa condição pode levar ao hipogonadismo secundário e a alterações nos hormônios sexuais, resultando em diminuição da libido, disfunção erétil e prejuízo à espermatogênese (FERREIRA, 2010; AMERATUNGA et al., 2023). Diversos fatores contribuem para o hipogonadismo em homens com obesidade. Contudo, está bem estabelecido que a obesidade compromete o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG), com supressão da secreção de gonadotrofinas e alteração na produção dos hormônios FSH (hormônio folículo-estimulante) e LH (hormônio luteinizante) (HAMMOUD et al., 2012; AMERATUNGA et al., 2023).

Além do hipogonadismo, outras alterações nos níveis de hormônios séricos são frequentes em homens com obesidade, como a diminuição da testosterona total e da globulina ligante de hormônios sexuais (SHBG) e o aumento dos níveis de estrogênio (CANNARELLA et al., 2024). A inibina B, hormônio relacionado à função das células de

Sertoli, também apresenta redução na obesidade, indicando comprometimento da qualidade da espermatogênese (CANNARELLA et al., 2024). Além das alterações hormonais, a obesidade afeta os parâmetros seminais e a qualidade espermática, pois promove estresse oxidativo no espermatozoide, aumentando os danos ao DNA (AMERATUNGA et al., 2023).

Evidencia-se, assim, uma relação entre hábitos cotidianos e fertilidade masculina, uma vez que práticas como alimentação inadequada, obesidade e sedentarismo são fatores reconhecidos por reduzir a fertilidade em homens (OSADCHUK & OSADCHUK, 2023). Embora a literatura ainda seja limitada quanto aos efeitos específicos da atividade física sobre a fertilidade masculina, sabe-se que a perda de peso associada à prática regular de exercícios pode melhorar os parâmetros reprodutivos, desde que o tipo e a intensidade da atividade sejam adequados (JÓŹKÓW & ROSSATO, 2017).

Não obstante, conforme demonstrado por Maleki e Tartibian (2018), o exercício de resistência é capaz de reduzir o estresse oxidativo e a inflamação em homens inférteis, além de promover melhora nos parâmetros seminais e na integridade do DNA espermático. Com base nessas evidências, o presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos da obesidade induzida por dieta hiperlipídica e do treinamento de resistência sobre o metabolismo lipídico e a qualidade da espermatogênese em camundongos.

1.1 Referencial teórico

1.1.1 Obesidade

Diversos estudos demonstram que a obesidade já não se configura somente como um problema de saúde individual, mas assume a proporção de uma grave crise de saúde pública, caracterizando-se como uma epidemia global do século XXI (HATHHOTUWA et al., 2020). O aumento constante da obesidade ao longo dos anos é evidenciado pelos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024), que indicam um crescimento considerável de sua prevalência entre 1990 e 2022, atingindo proporções alarmantes em todo o mundo. Em 1990, cerca de 25% dos adultos com 18 anos ou mais apresentavam excesso de peso, enquanto em 2022 esse número aumentou para 43%. Essa realidade preocupante já era observada desde o relatório publicado pela OMS em 2018, que indicou um aumento de quase três vezes no número de pessoas com obesidade entre 1975 e 2016.

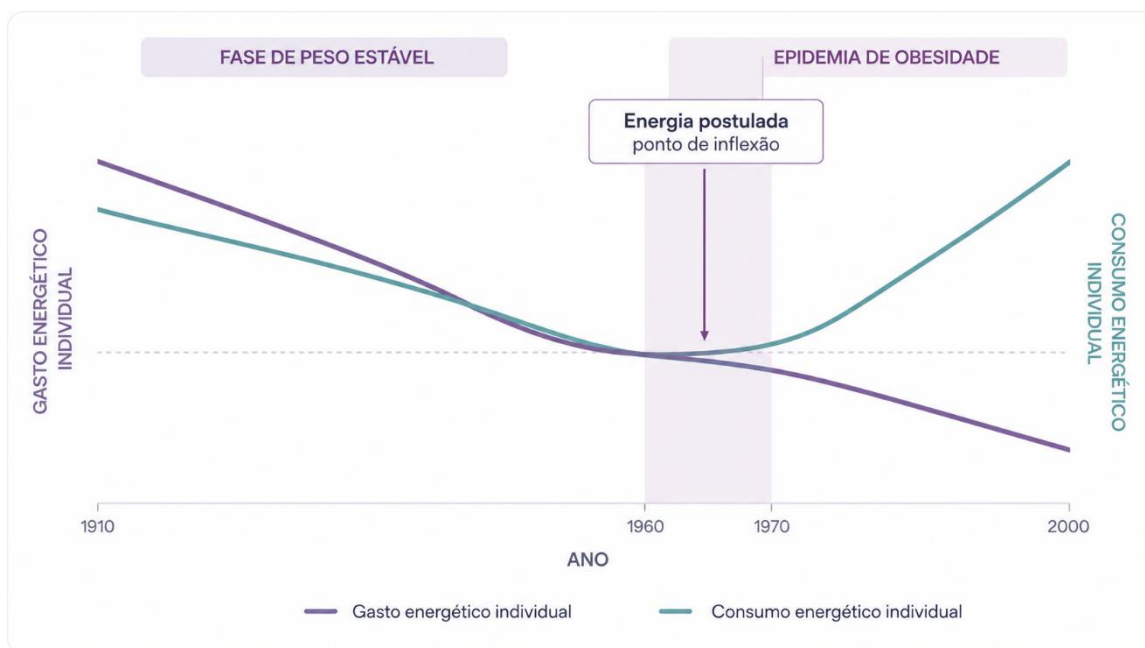
O acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal caracteriza as condições médicas de obesidade e sobrepeso. Entretanto, sua quantificação precisa, representa um

desafio devido à distribuição da gordura por todo o corpo (HATHHOTUWA et al., 2020). O Índice de Massa Corporal (IMC) é amplamente utilizado como ferramenta inicial de triagem por sua simplicidade, sendo calculado pela divisão do peso em quilogramas pela altura em metros elevada ao quadrado. Conforme a definição da OMS (2024), um IMC igual ou superior a 25 kg/m² indica sobrepeso, enquanto valores iguais ou acima de 30 kg/m² caracterizam obesidade (OMS, 2024). Trata-se, contudo, de uma medida indireta e limitada, que não distingue massa gorda de massa magra nem considera a distribuição da gordura corporal.

Por essa razão, avaliações complementares, como a circunferência da cintura, a relação cintura/quadril, a espessura das dobras cutâneas e a bioimpedância, são fundamentais para um diagnóstico mais preciso do estado nutricional e dos riscos associados à obesidade (HATHHOTUWA et al., 2020). Isso porque a obesidade é uma doença crônica altamente complexa, cujo diagnóstico adequado exige a avaliação de fatores além do peso corporal isolado, como a distribuição da gordura, possíveis complicações associadas e as diversas causas que podem contribuir para o seu desenvolvimento (WHARTON et al., 2020).

Embora a obesidade seja uma condição multifatorial, sabe-se que um de seus principais determinantes é o desequilíbrio entre o consumo energético por meio da alimentação e o gasto energético por meio da atividade física (OMS, 2024). Diante do aumento mundial da obesidade e do sobrepeso, surgiu a necessidade de compreender melhor as motivações relacionadas a esse crescente problema de saúde pública, sendo observado como fator dominante o aumento no consumo de alimentos associado à diminuição do gasto energético (BLÜHER, 2019).

Figura 1. Alterações no balanço entre gasto e consumo energético ao longo da epidemia de obesidade.



Legenda: Ingestão alimentar (vermelho) e gasto energético (azul) nos Estados Unidos entre 1910 e 2000.

Fonte: (adaptado de BLUHER, 2019).

Apesar de a disparidade energética ser o principal fator, existem outras motivações que influenciam a predisposição ao aumento de peso, as quais podem ser não alteráveis, como a genética, ou alteráveis, como fatores comportamentais e influências ambientais (MASOOD & MOORTHY, 2023). Dentre as causas não alteráveis, podem-se citar distúrbios monogênicos, como defeitos nos genes da proopiomelanocortina (POMC) e do receptor de melanocortina-4 (MC4R), variantes poligênicas, como no gene associado à massa gorda e obesidade (FTO), e outras predisposições genéticas (WESTBURY et al., 2023).

Quanto aos fatores ambientais alteráveis, podem ser citados o estado socioeconômico, alterações epigenéticas, influências pós-natais, ambiente intrauterino, estresse psicossocial, produtos químicos desreguladores endócrinos e microbiota gastrointestinal (MASOOD & MOORTHY, 2023). No que se refere às causas comportamentais alteráveis, as principais incluem o uso de medicamentos, privação de sono, alimentação inadequada e sedentarismo (MASOOD & MOORTHY, 2023). Outros fatores que podem contribuir para o surgimento ou agravamento da obesidade estão elencados na Tabela 1.

Tabela 1: Fatores que ocasionam a obesidade

Categoria	Tipo	Causa
 Causas Primárias	Causas Genéticas	Alterações nos genes
	Distúrbios Monogênicos	Mutação do receptor da melanocortina-4, deficiência de leptina e deficiência de POMC
	Síndromes	Prader-Willi, Bardet-Biedl, Cohen, Alström e Fröhlich
 Causas Secundárias	Neurológicas	Lesão cerebral, tumor cerebral, consequências da irradiação craniana e obesidade hipotalâmica
	Endócrinas	¹ hipertireoidismo, síndrome de Cushing, deficiência de GH e pseudo-hipoparatiroidismo
	Psicológicas	² depressão e distúrbios alimentares
	Induzida por Drogas	Antidepressivos tricíclicos, contraceptivos orais, antipsicóticos, anticonvulsivantes, glicocorticoides, sulfonilureias, glitazonas e bloqueadores

Legenda: ¹Há controvérsias se o hipotireoidismo causa ou agrava a obesidade.

²Depressão associada a excessos ou compulsão alimentar.

Fonte: adaptado de APOVIAN et al. (2015)

A obesidade exerce grande impacto na saúde coletiva, atingindo uma parcela significativa da população e apresentando elevada taxa de letalidade, sendo responsável por cerca de 49.592 internações hospitalares no Brasil entre 2018 e 2022 (COSTA et al., 2023). Além de representar por si só uma complicação para a saúde pública, a obesidade está associada a outras comorbidades, o que aumenta ainda mais o risco à vida (APOVIAN et al., 2016). Dentre as condições médicas mais comumente relacionadas à obesidade, destacam-se o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemia, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (BUSEBEE et al., 2023).

No diabetes mellitus tipo 2 (DM2), observa-se secreção inadequada de insulina e resistência à sua ação em tecidos periféricos, como músculo esquelético, tecido adiposo (TA) e fígado, constituindo um dos principais agentes responsáveis pela patogênese da obesidade (BOUTARI et al., 2023). Embora frequentemente associada à resistência insulínica, há indícios de que a dislipidemia não seja intrínseca a essa condição, estando intimamente ligada à obesidade central e caracterizando-se pela redução da lipoproteína de alta densidade (HDL) e aumento dos triglicerídeos (SEGULA, 2014). Há também uma relação entre o DM2 e a reprodutividade de homens com obesidade, sendo evidente em

muitos casos a disfunção erétil (DE), que tende a apresentar maior ocorrência conforme o aumento do IMC e frequentemente se configura como um fator de risco para doenças cardiovasculares (PASQUALI, 2006).

Quanto às doenças cardiovasculares relacionadas à obesidade, há evidências consistentes de associação com a doença arterial coronariana (DAC), e alguns estudos indicam ainda aumento do risco de insuficiência cardíaca (IC) em indivíduos com obesidade (SEGULA, 2014). Além das condições citadas, observa-se também maior risco de acidente vascular cerebral (AVC) e hipertensão arterial. A relação entre obesidade e doenças cardiovasculares está associada a alterações metabólicas, inflamatórias e vasculares (BUSEBEE et al., 2023).

Além de amplificar o risco de manifestação dessas comorbidades, a obesidade está frequentemente associada à síndrome metabólica, que normalmente engloba essas condições e outros fatores (DE MOLA, 2009). Para a caracterização da síndrome metabólica, é necessário que sejam observados ao menos 3 dos critérios descritos pelo Painel de Tratamento de Adultos III do Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (NCEP; CLEEMAN, 2001). São os seguintes critérios: circunferência da cintura >102 cm para homens e >88 cm para mulheres, triglicerídeos acima de 150 mg/dL, colesterol HDL <40 mg/dL para homens e <50 mg/dL para mulheres, pressão arterial acima de 130/85 mmHg e glicemia de jejum acima de 100 mg/dL (CLEEMAN, 2001).

Assim como o diabetes e a síndrome metabólica, a obesidade está relacionada a diversos parâmetros que podem afetar negativamente a fertilidade (SERVICE et al., 2023). Embora os efeitos da obesidade sobre a fertilidade masculina ainda não sejam amplamente estudados na literatura, há evidências de que a fertilidade masculina apresenta relação direta com o peso, especialmente quando o IMC é superior a 35 kg/m² (DE MOLA, 2009). O hipogonadismo secundário e as alterações nos hormônios sexuais são possíveis complicações que ocasionam infertilidade masculina associada à obesidade, podendo levar à diminuição do desejo sexual, disfunção erétil e prejuízo à espermatogênese (FERREIRA, 2010; AMERATUNGA et al., 2023).

Com relação à associação entre obesidade e fertilidade feminina, sabe-se que ela está presente em 38% a 88% das mulheres com Síndrome do Ovário Policístico (SOP), evidenciando um forte envolvimento do excesso de peso na patogênese dessa condição (FERREIRA, 2010). No que se refere ao período fértil de mulheres com obesidade, alguns estudos indicam anovulação crônica ou intermitente, alterações frequentes no ciclo menstrual e sinais de excesso de andrógenos (PASQUALI, 2006). Em relação à gravidez,

sabe-se que a obesidade visceral pode ocasionar ou influenciar complicações como dificuldade na concepção natural e assistida; durante a gestação, podem ocorrer diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, aborto espontâneo e macrosomia fetal (FERREIRA, 2010).

Quanto ao aumento de peso da mulher durante a gestação, acredita-se que esse fator possa aumentar a probabilidade de desenvolvimento de obesidade nos descendentes, sugerindo um potencial efeito epigenético transgeracional (ALTHOFF, 2021). Alguns estudos indicam que homens com obesidade também podem transmitir uma herança epigenética que eleva o risco de obesidade em seus descendentes, devido à diminuição da atividade mitocondrial do espermatozoide (AMERATUNGA et al., 2023).

Considerando os riscos que a obesidade representa para a saúde e os fatores alteráveis que a favorecem, o estudo dos mecanismos epigenéticos e da atuação desses fatores no organismo pode elucidar formas mais eficientes de tratamento e prevenção dessa doença crônica (ALTHOFF, 2021). Tendo em vista que um dos principais fatores que influenciam o aumento de peso é a alimentação desbalanceada, uma medida preventiva eficaz seria desencorajar as empresas alimentícias a oferecerem alimentos altamente calóricos e gordurosos, por meio da taxação e do banimento de propagandas desses produtos (ALTHOFF, 2021). Outros métodos de prevenção estão elencados na Tabela 2, com base em dados coletados da publicação “Obesidade e sobrepeso” da OMS (2024).

Tabela 2: Métodos de prevenção da Obesidade Individuais

Métodos de prevenção da obesidade	
	Garantir ganho de peso adequado durante a gravidez
	Praticar o aleitamento materno exclusivo nos primeiros 6 meses até os 24 meses ou mais
	Incentivar comportamentos saudáveis (alimentação, atividade física, sono) em crianças
	Limitar o tempo de tela (computadores, celulares, televisão, etc)
	Promover comportamentos alimentares saudáveis (limitar o consumo bebidas e alimentos calóricos e gordurosos)
	Desfrutar de uma vida saudável (duração e qualidade do sono, evitar tabaco e álcool, autorregulação emocional)
	Praticar atividades físicas regularmente
	Aumentar o consumo de frutas e vegetais, bem como legumes, grãos integrais e nozes (alimentação saudável)

Fonte: do autor/UNILA, 2026, Dados utilizados para construir a tabela retirados do site da OMS (2024).

Quanto aos possíveis tratamentos, embora seja necessário considerar as necessidades e particularidades de cada indivíduo, a maioria das intervenções voltadas a amenizar as comorbidades causadas pela obesidade está associada à perda de peso (MAIA et al., 2024). Dentre os procedimentos mais comuns para o tratamento da obesidade, podem-se citar: a cirurgia bariátrica, eficaz em casos mais severos; o uso de medicamentos, quando indicado de forma segura e eficiente; e as abordagens comportamentais (MAIA et al., 2024). O tratamento baseado em mudança comportamental visa melhorar as práticas de atividade física e alimentação saudável, podendo ser realizado por meio de terapias, idealmente de forma individualizada (MAIA et al., 2024).

1.1.2 Fertilidade masculina

Nos últimos anos, a obesidade entre homens e mulheres em idade reprodutiva vem aumentando em ritmo preocupante, acompanhada simultaneamente por um declínio na fertilidade (BEST & BHATTACHARYA, 2015; AMERATUNGA et al., 2023). Corroborando a ideia de que o declínio da fertilidade representa uma questão de saúde pública global e urgente, a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024) publicou um relatório

demonstrando que cerca de 17,5% da população adulta do mundo sofre de infertilidade, ou seja, 1 em cada 6 pessoas é infértil.

Dominar as definições relacionadas à fertilidade é crucial para compreender as condições e comorbidades a ela associadas, sendo possível assim diferenciar esterilidade, subfertilidade e infertilidade (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). A subfertilidade, muitas vezes confundida com infertilidade, é caracterizada como qualquer condição ou grau de fertilidade reduzida em casais que tentam engravidar sem sucesso. Já a esterilidade é definida como uma condição permanente de incapacidade de conceber uma gravidez natural (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). Por fim, a infertilidade é definida como a incapacidade de um casal conceber uma gravidez após 12 meses de tentativas por meio de relações sexuais desprotegidas, ou devido a uma deficiência que impeça a reprodução de um indivíduo (VANDER BORGHT & WYNS, 2018).

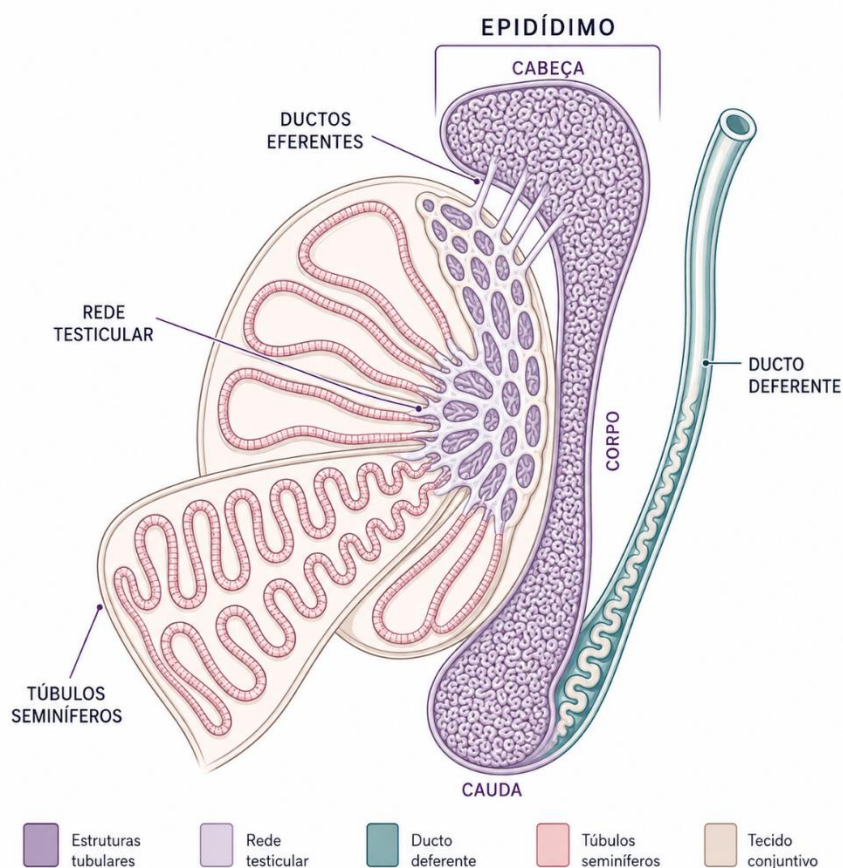
Assim como na obesidade, existem múltiplos fatores que podem interferir na fertilidade natural, sendo possível identificar três principais: o período durante o qual o casal tentou engravidar sem sucesso, a idade e a infertilidade associada a comorbidades (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). Esse tempo de não concepção costuma caracterizar o grau de severidade da subfertilidade, considerando que, quanto mais tempo o casal tenta engravidar sem sucesso, menor a probabilidade de concepção espontânea, podendo evoluir para infertilidade (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). Além dessas condições principais, há diversos fatores comportamentais responsáveis pela diminuição da fertilidade, como alimentação inadequada, sedentarismo, sobrepeso e obesidade (SHARMA et al., 2013).

Embora a literatura apresente mais informações sobre a infertilidade feminina, sabe-se que os homens são responsáveis por 50% dos casos de infertilidade em todo o mundo (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). Dessa forma, para melhor compreensão dos fatores de risco de infertilidade masculina relacionados à obesidade, é necessário entender a anatomia do sistema reprodutivo masculino e seus processos. O sistema reprodutor masculino é composto pelo pênis, vesículas seminais, próstata, ducto deferente, epidídimo e testículos, sendo sua função regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) (ROBERTS & PRYOR, 1997).

1.1.2.1 Espermatogênese e maturação espermática

A fertilidade masculina está diretamente ligada à espermatogênese, um processo complexo que ocorre nos testículos e resulta na produção de espermatozoides por meio de divisões e diferenciação celulares (MIYASO et al., 2022). Esse processo pode ser dividido em três fases principais: a fase de proliferação, denominada espermatocitogênese; a fase de diferenciação, conhecida como espermiogênese; e a fase de liberação das células germinativas formadas, definida como espermição (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023).

Figura 2. Representação esquemática da organização anatômica do testículo, epidídimo e ducto deferente.



Fonte: adaptado de ROBERTS & PRYOR (1997).

Tendo em vista que esse processo ocorre inicialmente nos testículos, observa-se sua anatomia básica: o órgão é envolvido por uma bolsa de origem cutânea e da fáscia da parede do abdômen, conhecida como escroto (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Sua anatomia interna é composta pela túnica albugínea, uma cápsula fibrosa que reveste o testículo, formando septos que dividem o órgão em lóbulos. Nesses lóbulos, encontram-se os túbulos seminíferos, onde ocorre a espermatogênese; conectados a eles, há uma rede de canais localizada no mediastino, chamada de rede testicular, que funciona como uma “ponte” entre o testículo e o epidídimo (Figura 2) (ROBERTS & PRYOR, 1997).

As principais células que compõem os túbulos seminíferos são (Figura 3): as células de Sertoli, as células germinativas e as células mioides peritubulares, que fazem parte da camada muscular externa e realizam peristaltismo para encaminhar os espermatozoides ao epidídimo (ROBERTS & PRYOR, 1997). As células de Sertoli desempenham papel fundamental na espermatogênese, fornecendo suporte físico, nutricional e estrutural às células germinativas. Além disso, essas células são responsáveis pela fagocitose de células germinativas degeneradas e corpos residuais, pela produção e secreção de proteínas essenciais para a espermatogênese e pela formação da barreira hematotesticular, que protege as células germinativas (MIYASO et al., 2022).

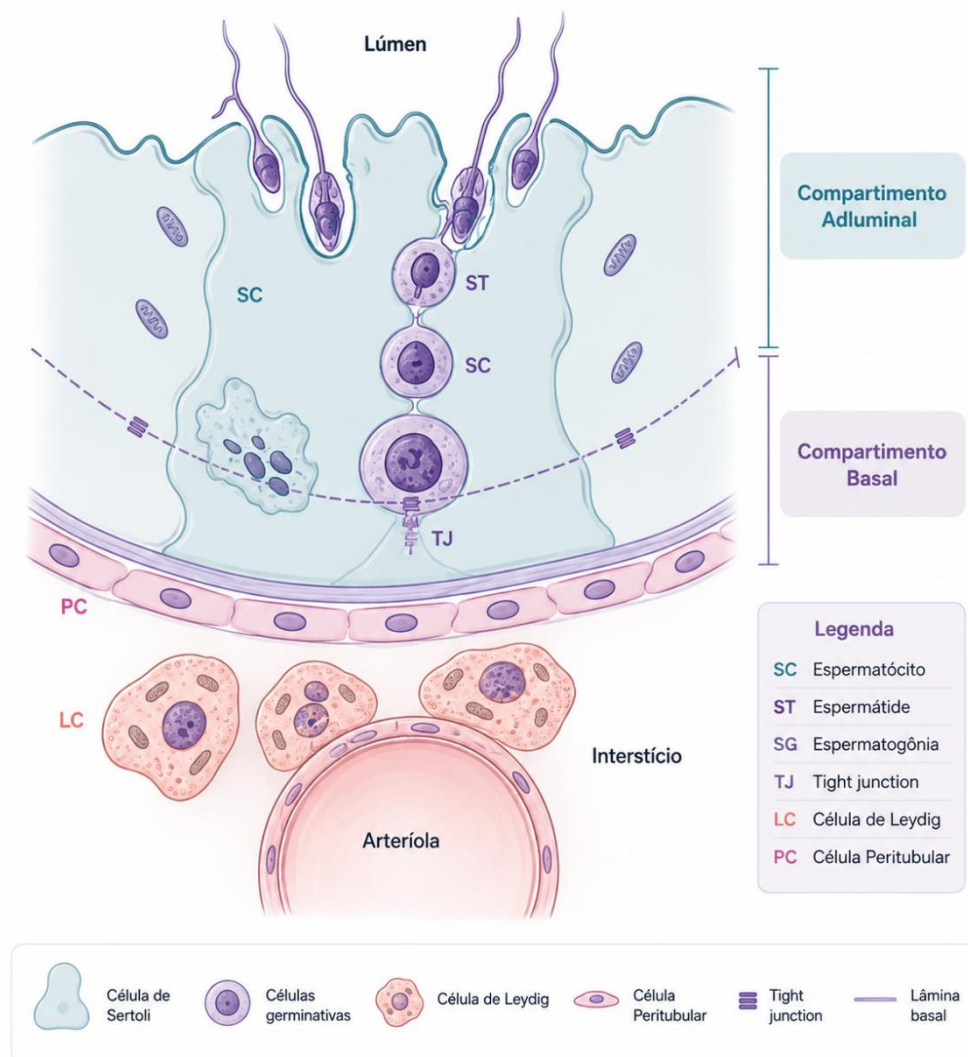
A primeira etapa do processo de produção de espermatozoides é a espermatocitogênese, fase na qual ocorrem os processos de divisão mitótica e meiótica (SHARMA & AGARWAL, 2011). Essa etapa se inicia durante o desenvolvimento embrionário, quando as células germinativas primordiais, após migrarem do saco vitelínico, colonizam as gônadas fetais indiferenciadas, multiplicando-se por mitose e diferenciando-se em gonócitos, que se estabelecem próximos ao compartimento basal (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Posteriormente, essas células tornam-se espermatogônias ($2n$), responsáveis pela produção de espermatozoides nos túbulos seminíferos; elas podem permanecer em estado mitótico, mantendo-se como espermatogônias, ou avançar para o início da meiose, transformando-se em espermatócitos (ROBERTS & PRYOR, 1997).

As espermatogônias que realizam a transição do estado mitótico para o meiótico são do tipo B e são estimuladas a agir dessa maneira pelo ácido retinóico, tendo seus núcleos diminuídos gradativamente pelos processos de meiose até sua forma final (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). As espermatogônias do tipo B iniciam a primeira meiose, que apresenta uma longa prófase devido às suas etapas de crescimento e aumento celular, transformando-se então em espermatócitos primários, os quais permanecem em estado latente até a puberdade (ROBERTS & PRYOR, 1997; SHARMA & AGARWAL, 2011).

Ao chegar à adolescência, ocorrem alterações hormonais que reativam a divisão meiótica das células, dando continuidade ao processo de meiose I dos espermatócitos primários ($2n$), que, ao final da divisão, tornam-se espermatócitos secundários (n) (ROBERTS & PRYOR, 1997; NISHIMURA & L'HERNAULT, 2017). Posteriormente, os espermatócitos secundários realizam a meiose II, resultando em células haploides, denominadas espermátides, concluindo assim a meiose, etapa na qual ocorrem processos como emparelhamento cromossômico e crossing-over, gerando um novo genoma para as novas células (SHARMA & AGARWAL, 2011). Essa fase de espermatocitogênese ocorre

do compartimento basal em direção ao compartimento adluminal do túbulo seminífero (Figura 3) (ROBERTS & PRYOR, 1997).

Figura 3. Representação esquemática da espermatogênese, ilustrando a organização do túbulo seminífero e do interstício testicular.



Legenda: Complexos juncionais apertados (tj) entre as células de Sertoli adjacentes formam uma barreira impermeável às macromoléculas e dividem a parede do túbulo seminífero em adluminal e compartimentos basais. Os tipos de células retratadas são Célula de Leydig (LC), célula de Sertoli (SC), espermatogônias (sg), espermatócito (sc), espermátide (st) e células mioides peritubulares (PC).

Fonte: Adaptado de ROBERTS & PRYOR (1997).

Após essa etapa, inicia-se a espermiogênese, já na região do lúmen, responsável por dar origem aos espermatozoides a partir de diversas transformações que envolvem alterações bioquímicas e morfológicas (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Essas mudanças incluem a condensação da cromatina, o alongamento do núcleo, a redução considerável do citoplasma, o desenvolvimento do acrossoma (derivado do complexo de Golgi), que terá

função posteriormente ao interagir com o ovócito durante a fecundação, e a formação da cauda, responsável pela motilidade do espermatozoide (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023; NISHIMURA & L'HERNAULT, 2017).

Outras interações ocorrem na fase final da espermiogênese, como o acréscimo e a modificação no posicionamento de algumas organelas. As mitocôndrias, por exemplo, concentram-se mais próximas ao flagelo, formando a bainha mitocondrial, que gerará a energia necessária para a movimentação dos espermatozoides (ROBERTS & PRYOR, 1997). Além disso, também são liberados alguns componentes celulares, como os ribossomos, que não serão necessários para a diferenciação celular, por meio de uma gotícula citoplasmática conhecida como corpo residual (NISHIMURA & L'HERNAULT, 2017).

O resultado dessas alterações morfológicas é um espermatozoide maduro, que pode ser dividido em cabeça, parte intermediária e cauda. A cabeça contém o material genético e o acrossoma, que possui enzimas digestivas a serem liberadas ao entrar em contato com o oócito, auxiliando o espermatozoide a realizar a fecundação. A parte intermediária, localizada após a cabeça, possui um elevado número de mitocôndrias para produção de energia, que auxiliará na motilidade da última parte, a cauda, responsável pela movimentação dos espermatozoides (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023).

Embora a estrutura geral dos espermatozoides seja conservada entre a maioria das espécies, existem diferenças específicas em sua morfologia. Isso é visível, por exemplo, na comparação entre espermatozoides humanos, que apresentam cabeça em formato de espátula, e os de camundongos, que possuem cabeça alongada e em formato de foice (SILVA, 2021).

Com a liberação dos espermatozoides maduros no lúmen dos túbulos seminíferos pelas células de Sertoli, determina-se o final da espermiogênese e o início da espermiação (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Nesse processo, ocorre o transporte ativo dos espermatozoides pelos canais da rede testicular até o epidídimo, que costuma ser dividido em três partes principais para facilitar sua caracterização: cabeça, corpo e cauda (Figura 2). No total, o epidídimo é um único tubo longo e enrolado sobre si mesmo, conectado à rede testicular (ROBERTS & PRYOR, 1997).

A fisiologia dessa estrutura está relacionada à maturação e ao armazenamento dos espermatozoides, permitindo que se tornem férteis e móveis, além de realizar posteriormente seu transporte ativo até os ductos deferentes, onde os gametas masculinos são armazenados (ROBERTS & PRYOR, 1997). Os espermatozoides levam entre 1 e 2

semanas para realizar a maturação, processo no qual ocorrem diversas adições de proteínas à membrana espermática (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Na parte final da cauda do epidídimo encontra-se o início do ducto deferente, uma porção enrolada que consiste em um tubo muscular que permite que os espermatozoides alcancem a uretra para a ejaculação (ROBERTS & PRYOR, 1997).

1.1.2.2 Regulação hormonal da espermatogênese

A espermatogênese é um processo complexo, influenciado pela ação conjunta de diversos hormônios que estimulam e regulam suas etapas (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Dessa forma, alguns órgãos endócrinos estão associados à espermatogênese, dentre eles o hipotálamo, localizado na base do terceiro ventrículo do cérebro; a hipófise, logo abaixo, conectada a ele por um pedúnculo hipofisário, possuindo lobos anterior e posterior; e, por fim, os testículos (ROBERTS & PRYOR, 1997).

O principal hormônio relacionado à produção de espermatozoides é a testosterona, que já é produzida pelo embrião antes mesmo do nascimento, por meio das células de Leydig, inicialmente estimuladas pelo hormônio Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), proveniente da placenta (CHRISTIN-MAITRE & YOUNG, 2022). Embora a produção de testosterona se inicie precocemente, ao longo da infância há poucos estímulos para sua síntese, retornando apenas na puberdade a partir da secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (CHRISTIN-MAITRE & YOUNG, 2022).

O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é sintetizado e secretado pelo hipotálamo, responsável por controlar o início da espermatogênese; ele estimula as células na região anterior da hipófise a sintetizarem e liberarem os hormônios glicoproteicos, sendo eles o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) (SHARMA & AGARWAL, 2011). O hormônio luteinizante (LH) é crucial para o processo de esteroidogênese, pois estimula as células de Leydig do testículo a produzir testosterona (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023).

Quanto ao hormônio folículo-estimulante (FSH), sua função está relacionada à estimulação das células de Sertoli, atuando na produção de espermatozoides (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Essas células também atuam na síntese e secreção de inibina, ativina, proteína de ligação a andrógenos (ABP), transferrina testicular, ativador do plasminogênio (AP), líquido luminal e outros fatores de crescimento (MIYASO et al., 2022).

Essas proteínas e hormônios estão associados à espermatogênese. A ABP, por exemplo, ao se conectar com a testosterona, aumenta a concentração desse hormônio masculino nos túbulos seminíferos, ativando o início da produção de gametas masculinos (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Quanto à ativina e à inibina, são hormônios que possuem efeitos opostos: enquanto a ativina estimula a secreção de FSH, a inibina é responsável por seu controle, suprimindo sua secreção (MIYASO et al., 2022).

O FSH ainda atua incentivando a ação do ativador de plasminogênio, uma enzima com função de remodelar os tecidos testiculares para facilitar a liberação das células germinativas maduras no lúmen, além de reabsorver material celular residual (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Com relação ao líquido luminal, ele atua auxiliando no processo de espermiogênese, representando grande parte do fluido secretado pelas células de Sertoli presente no compartimento adluminal do túbulo seminífero (ROBERTS & PRYOR, 1997). Outros hormônios, como adrenocorticotrófico, prolactina, hormônio do crescimento e hormônio estimulador da tireoide, também são secretados pela adenohipófise e atuam na espermatogênese (SHARMA & AGARWAL, 2011).

1.1.2.3 Esteroidogênese testicular

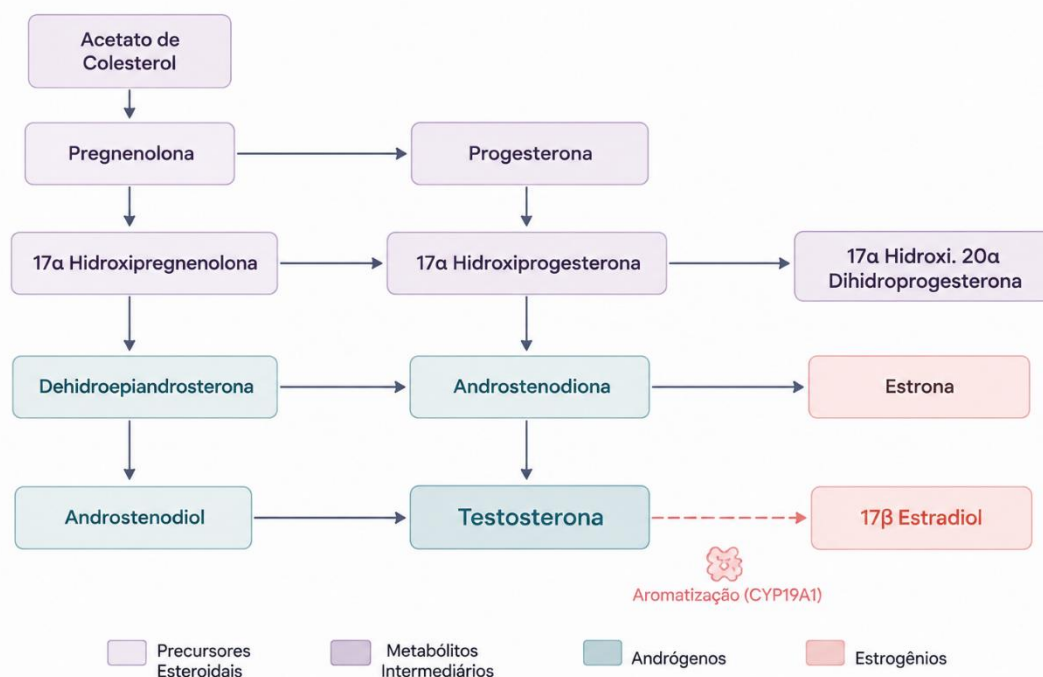
A esteroidogênese é o processo de produção de hormônios esteroides que ocorre nos testículos, produzindo, a partir das células de Leydig, os hormônios estrógenos e a testosterona quando estimuladas pelo hormônio luteinizante (LH) (ALCÂNTARA & TONIOLLI, 2023). Dentro das células intersticiais, o colesterol serve como precursor para a síntese de testosterona. Esse processo bioquímico envolve diversas reações enzimáticas e pode utilizar o colesterol proveniente tanto da síntese intracelular a partir de ésteres de colesterol, conhecida como via *de novo*, quanto de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) captadas no sangue (GEBARA et al., 2002).

Esse processo pode ser regulado por diversos fatores genéticos e bioquímicos, como pela transcrição de genes, codificação de enzimas e cofatores esteroidogênicos e por suas modificações pós-traducionais (BREMER & MILLER, 2014). A transformação do colesterol em testosterona passa por muitas etapas, envolvendo diversas enzimas, dentre as quais se destacam as do grupo citocromo P450, localizadas nas membranas mitocondriais (ROBERTS & PRYOR, 1997; GEBARA et al., 2002).

Outro grupo de enzimas que participa da esteroidogênese são as HSD, que ao contrário das P450, podem ter suas reações catalisadas por uma ou mais isoenzimas

(BREMER & MILLER, 2014). Dentre os genes relacionados a essas enzimas, destacam-se a proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR), o membro 1 da família 11 do citocromo P450, subfamília A (CYP11A1), a 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase (HSD3B2), a esteroide do citocromo P450 17 α -monooxigenase (CYP17A1) e a 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase 3 (HSD17B3) (YANG et al., 2021).

Figura 4. Representação esquemática da biossíntese de testosterona a partir do acetato de colesterol.



Legenda: A testosterona é sintetizada a partir do colesterol por uma sequência de cadeias enzimáticas dentro das células de Leydig, localizadas no interstício testicular.

Fonte: GEBARA et al. (2002).

Cada enzima desempenha um papel específico na produção de hormônios esteroides. A StAR possui um papel crucial para o início da produção de hormônios esteroides, ao realizar o transporte do colesterol para a mitocôndria nos testículos. A CYP11A1, localizada nas mitocôndrias, realiza a clivagem da cadeia lateral do colesterol, convertendo-o em pregnenolona. A CYP17A1, por sua vez, está presente no retículo endoplasmático e é responsável pela atividade enzimática da 17 α -hidroxilase, convertendo a 17-hidroxiprogesterona em androstenediona (BREMER & MILLER, 2014).

Posteriormente, a HSD17B3 é responsável por estimular a conversão de androstenediona em testosterona, e a isoenzima representada pelo gene HSD3B2 é responsável por converter pregnenolona em progesterona, 17OH-Preg em 17 α -hidroxiprogesterona, desidroepiandrosterona em androstenediona e androstenediol em

testosterona (BREMER & MILLER, 2014). Uma parcela da testosterona produzida pode ser transformada em estradiol pela ação da enzima aromatase, inibindo a síntese de LH, ou ser convertida em diidrotestosterona, que possui maior afinidade pelo receptor androgênico (AR), tornando sua ação mais intensa e potente que a da testosterona (ROBERTS & PRYOR, 1997). O processo de esteroidogênese está representado de forma simplificada na Figura 4.

1.1.2.4 Metabolismo lipídico testicular

Conforme relatado anteriormente, a obesidade é um dos fatores de risco para a infertilidade masculina e representa uma das condições mais preocupantes do século XXI (AMERATUNGA et al., 2023). Dessa forma, observa-se que o tecido adiposo é o principal responsável pelo metabolismo lipídico, o qual, em casos de obesidade e dieta rica em gorduras, pode ser alterado, afetando o equilíbrio na dinâmica de síntese e degradação dos lipídios e agindo negativamente sobre os processos da fertilidade masculina (KIM et al., 2017).

Essa instabilidade causada pelas alterações no metabolismo lipídico pode afetar a saúde reprodutiva masculina, considerando que os lipídios desempenham um papel multifacetado na esteroidogênese e, conseqüentemente, na espermatogênese (LUO et al., 2020). Além de servirem como fonte de energia para as células em divisão, os lipídios são componentes essenciais das membranas celulares, como as dos espermatozoides, influenciando sua estrutura e função (CRISÓSTOMO et al., 2020).

Há também relação com a integridade das mitocôndrias, que são ricas em lipídios e fundamentais para a produção de energia e a proteção contra danos oxidativos, os quais podem comprometer a viabilidade e a motilidade dos espermatozoides (CRISÓSTOMO et al., 2020). O tecido adiposo ainda está relacionado a uma maior concentração de hormônios andrógenos e outros esteroides lipossolúveis, uma vez que esse tecido os armazena (DE MOLA, 2009).

Ainda há uma associação do metabolismo lipídico com as células de Sertoli, uma vez que elas apresentam relação intrínseca com a síntese lipídica, o armazenamento e o metabolismo oxidativo, tendo como principal fonte de energia o ácido graxo mitocondrial. Após a produção de energia nas mitocôndrias para que as células de Sertoli auxiliem a espermatogênese, ocorre a liberação de moléculas derivadas de oxigênio, denominadas espécies reativas de oxigênio (EROs) (LUO et al., 2020).

Tratando dos efeitos causados pela obesidade, um dos problemas reprodutivos mais frequentemente encontrados é a disfunção erétil (DE), associada diretamente ao aumento do índice de massa corporal (IMC), visto que cerca de 75% dos homens que relataram esse problema estavam acima do peso ou tinham obesidade (PASQUALI, 2006; AMERATUNGA et al., 2023). Essa condição é caracterizada pela dificuldade contínua ou frequente de atingir e manter uma ereção adequada para a prática de atividade sexual (DE ALMEIDA, 2014).

A associação entre DE e obesidade pode estar relacionada a alguns fatores, como níveis baixos de testosterona livre e total (AMERATUNGA et al., 2023; DE MOLA, 2009). As doenças cardiovasculares e a diabetes mellitus tipo 2 estão associadas à disfunção erétil de forma independente, embora também possam estar associadas à obesidade (PASQUALI, 2006).

Algumas dessas condições fisiológicas relacionam-se ainda com a diminuição da libido e da frequência de coito, afetando a vida sexual de homens com obesidade, o que pode levar a maior dificuldade com o desempenho sexual e ao aumento da esquivia de encontros sexuais (HAMMOUD et al., 2012). A gordura visceral corresponde ao tecido adiposo que se acumula ao redor de órgãos internos, diferindo da gordura subcutânea, localizada sob a pele. No saco escrotal, esse depósito se forma ao redor dos testículos e das estruturas adjacentes, comprometendo a dissipação local de calor e favorecendo o aumento da temperatura testicular (DE ALMEIDA, 2014).

Ademais, o acúmulo de gordura visceral apresentado por muitos homens com obesidade contribui para a desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG) (DE ALMEIDA, 2014). Essas alterações estão relacionadas com o aumento da atividade da enzima aromatase, que converte testosterona em estrogênio, com o aumento da secreção de hormônios originados do tecido adiposo e com a secreção de adipocinas (DE ALMEIDA, 2014).

Sendo assim, nota-se que o aumento de peso pode estar conectado com uma maior produção de estrona e estradiol, causando um efeito negativo no hipotálamo que altera a secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), suprimindo a produção e liberação do LH e do FSH (HAMMOUD et al., 2012). Essas alterações costumam caracterizar a condição de hipogonadismo hipogonadotrófico, conhecida por interferir na função do eixo HHG, afetando a espermatogênese (DE MOLA, 2009).

Outros fatores que influenciam o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas também merecem destaque. Entre eles, está o aumento da secreção de leptina, hormônio produzido pelo

tecido adiposo, que reduz a produção de testosterona pelas células de Leydig e pode afetar diretamente os espermatozoides (DE ALMEIDA, 2014). Além disso, a diminuição dos níveis de inibina B observada em homens com obesidade pode comprometer a quantidade de células de Sertoli, levando à redução do número de espermatozoides. Ambos os mecanismos atuam de forma negativa sobre a espermatogênese (DE ALMEIDA, 2014).

Além dessas alterações nos níveis hormonais, observa-se também um efeito negativo da obesidade sobre a globulina de ligação a hormônios sexuais (SHBG). A produção hepática dessa proteína pode ser reduzida, resultando em aumento dos níveis de estrogênio e diminuição da testosterona, o que afeta negativamente a quantidade e a qualidade do esperma (CANNARELLA et al., 2024; DE ALMEIDA, 2014). A qualidade de espermatozoide também pode ser comprometida pelo estresse oxidativo seminal, que pode ser induzido por alterações na função espermática causadas pela obesidade (AMERATUNGA et al., 2023).

Esses fatores podem aumentar o dano do DNA espermático, afetando negativamente a integridade da cromatina e reduzindo a atividade mitocondrial do espermatozoide. Tais modificações podem ser justificadas por uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) (AMERATUNGA et al., 2023). Alguns estudos indicam que essas condições podem alterar a epigenética dos espermatozoides, representando uma complicação que pode ser transmitida aos descendentes (AMERATUNGA et al., 2023).

Sendo assim, faz-se necessária a definição de melhores estratégias de prevenção e tratamento dos efeitos que a obesidade pode ocasionar na fertilidade masculina. Os principais procedimentos que podem ser citados como tratamento incluem: técnicas de reprodução assistida, terapia medicamentosa e modificação dos hábitos diários. Em sua maioria, essas intervenções têm como objetivo tratar os sintomas da infertilidade ou atuar diretamente sobre a obesidade, a fim de melhorar a fertilidade (CANNARELLA et al., 2024; DE ALMEIDA, 2014).

Apesar da existência dessas opções de tratamento, elas ainda se apresentam limitadas em número e especificidade (JAMSAI & O'BRYAN, 2011). Diante disso, novas pesquisas têm sido impulsionadas na busca por avanços nos métodos de prevenção e tratamento da infertilidade masculina.

1.1.3 Treino de resistência

Como citado anteriormente, há uma forte relação entre os hábitos diários e a fertilidade masculina, uma vez que condições como má alimentação, obesidade e sedentarismo são fatores conhecidos por reduzir a fertilidade em homens (OSADCHUK & OSADCHUK, 2023). Dessa forma, observa-se que a diminuição ou a ausência da prática de atividades físicas pelos indivíduos, especialmente do sexo masculino, tem se tornado cada vez mais comum no cotidiano, provavelmente devido aos avanços tecnológicos, que resultam em aumento do tempo de tela e redução de trabalhos que exigem esforço físico (OSADCHUK & OSADCHUK, 2023).

Embora não seja a causa primária da infertilidade masculina, o sedentarismo está diretamente relacionado à piora da qualidade seminal, principalmente em razão do aumento da temperatura testicular (GASKINS, 2015). Em um estudo conduzido por Gaskins et al. (2015), foi observada uma associação inversa entre o tempo gasto assistindo TV (atividade considerada um indicador de estilo de vida sedentário) e a concentração espermática. Dentre os 189 participantes, aqueles que relataram assistir a mais de 20 horas de TV por semana apresentaram concentração de espermatozoides 44% menor em comparação aos que não assistiam (GASKINS, 2015).

Além de reduzir a concentração espermática, o aumento da temperatura testicular provocado pela inatividade física cotidiana pode prejudicar a espermatogênese, desencadear apoptose de células germinativas, promover estresse oxidativo, causar danos ao DNA do espermatozoide e diminuir os níveis de inibina B (OSADCHUK & OSADCHUK, 2023). Assim, o estilo de vida sedentário tende a potencializar os efeitos negativos da obesidade sobre a fertilidade masculina. Por outro lado, a perda de peso pode amenizar e, em alguns casos, até reverter esses danos, contribuindo para a melhoria da saúde reprodutiva (OSADCHUK & OSADCHUK, 2023).

Apesar de o emagrecimento ser fundamental para a melhora da fertilidade masculina, é crucial que ele ocorra de forma gradual e controlada (SHARMA, 2023). A literatura demonstra que a inanição e a perda rápida de peso, como em casos de cirurgia bariátrica, podem prejudicar a função espermática (SHARMA, 2023). Por outro lado, quando associada à prática regular de exercícios físicos, a perda de peso pode resultar em melhora da motilidade, da morfologia e da contagem de espermatozoides, além de outros fatores favoráveis à fertilidade masculina (SHARMA, 2023).

A atividade física, apesar de trazer diversos benefícios no combate às implicações da obesidade, apresenta efeitos na fertilidade masculina que dependem de diversos fatores, como o tipo de exercício, sua duração e intensidade (VAAMONDE MARTIN et al., 2014).

Diversas atividades, como esportes motorizados, ciclismo, equitação e até mesmo a condução prolongada de automóveis, por exemplo, podem elevar a temperatura escrotal, assim como ocorre no sedentarismo e na obesidade (JÓŹKÓW & ROSSATO, 2017).

Os esportes de resistência aeróbica são caracterizados pelo treino do sistema aeróbico, promovendo aumento de energia e resistência na prática de atividades físicas, sendo representados principalmente pela natação, corridas de longa distância e ciclismo (VAAMONDE MARTIN et al., 2014). Estudos em animais demonstram que a natação pode ser aliada da fertilidade masculina, dependendo de sua intensidade (BELLADELLI et al., 2023). Quando realizada de forma moderada, demonstrou redução no estresse oxidativo testicular; porém, quando praticada de maneira intensiva por períodos prolongados, pode induzir estresse oxidativo e danos ao DNA dos espermatozoides (BELLADELLI et al., 2023).

A prática de corridas também ocasiona alterações significativas na fertilidade masculina. Quando há treinamento excessivo e por longos períodos, podem ocorrer efeitos negativos, como estresse oxidativo, aumento da temperatura nos testículos e redução na concentração e na motilidade espermática (JÓŹKÓW & ROSSATO, 2017). Por outro lado, quando realizadas em intensidade moderada, as corridas não demonstraram efeitos significativos na qualidade seminal, embora tenham sido relatados benefícios relacionados ao atraso do envelhecimento testicular, provavelmente associados à diminuição do estresse oxidativo (GASKINS et al., 2015).

A testosterona, hormônio associado à fertilidade masculina, também desempenha um papel crucial nos exercícios de resistência (VINGREN et al., 2010). Ela atua como principal promotora do crescimento muscular e do aumento da força em homens, sendo essencial para o desempenho e os resultados dos treinos resistidos (VINGREN et al., 2010). Sendo assim, é previsível que ocorram alterações positivas nos níveis de testosterona ao realizar esse tipo de atividade física, induzindo um aumento tanto na frequência quanto na amplitude da secreção desse hormônio (JÓŹKÓW & ROSSATO, 2017; VAAMONDE MARTIN et al., 2014).

Além disso, os exercícios de resistência podem trazer outros benefícios para a fertilidade masculina, entre eles a redução do estresse oxidativo e da inflamação, bem como o aumento da defesa antioxidante em repouso (MALEKI & TARTIBIAN, 2018). A prática regular desse tipo de atividade física, em intensidade moderada, pode inclusive aumentar as chances de gravidez (MALEKI & TARTIBIAN, 2018). Um estudo com 199 casais, publicado por Maleki e Tartibian (2018), demonstrou que a inclusão desse tipo de atividade resultou em um aumento de 36,2% na taxa de gravidez (72 casais engravidaram),

representando um aumento de 17,7 vezes nas chances de concepção em comparação com casais que não praticavam atividade física regular.

Diante do exposto, fica evidente que a obesidade exerce efeitos deletérios sobre a fertilidade masculina, afetando desde o equilíbrio hormonal até a qualidade espermática. A literatura também aponta que a prática regular de exercícios físicos de resistência, especialmente em intensidade moderada, apresenta potencial para atenuar esses danos, promovendo benefícios como redução do estresse oxidativo e melhora nos parâmetros seminais. Esses achados reforçam a importância de investigar os mecanismos pelos quais a obesidade e o exercício físico modulam a função reprodutiva masculina, tema que será abordado nas seções subsequentes desta dissertação.

1.2 Justificativa

Numerosos estudos evidenciam que a obesidade evoluiu de um problema de saúde individual para uma grave crise de saúde pública, assumindo proporções epidêmicas em escala global desde o início do século XXI (HATHHOTUWA et al., 2020). Apesar de essa condição médica ser influenciada por diversos fatores, o desequilíbrio entre a energia consumida pela alimentação e a energia gasta através da atividade física é reconhecido pela OMS (2024) como um fator fundamental para o desenvolvimento da obesidade.

A obesidade não apenas aumenta o risco de doenças como diabetes tipo 2, dislipidemia e hipertensão, mas também está estreitamente relacionada à síndrome metabólica (APOVIAN et al., 2016; BUSEBEE et al., 2023). Essa combinação de fatores eleva significativamente os riscos para complicações na saúde reprodutiva masculina (SERVICE et al., 2023). Entre os agentes que afetam negativamente a fertilidade relacionados à obesidade destacam-se: diminuição dos níveis de inibina B, da testosterona livre e total, redução da atividade mitocondrial do espermatozoide, aumento nos danos ao DNA espermático, elevação do estresse oxidativo seminal e dos níveis de estrogênio (DE ALMEIDA, 2014; AMERATUNGA et al., 2023).

Tais complicações podem afetar a vida reprodutiva de homens com obesidade, causando disfunção erétil, desregulação hormonal, diminuição da qualidade espermática e da espermatogênese, além de possíveis alterações epigenéticas transmitidas à prole, comprometendo a fertilidade de futuras gerações (DE ALMEIDA, 2014; AMERATUNGA et al., 2023). O sedentarismo, frequentemente associado à obesidade, desempenha papel crucial nesse processo: o aumento da temperatura testicular, causado pelo acúmulo de

gordura visceral e pela falta de atividade física, compromete diretamente a produção de espermatozoides (DE ALMEIDA, 2014; GASKINS, 2015).

Diante dos impactos da obesidade na fertilidade masculina, torna-se crucial desenvolver estratégias mais eficazes de prevenção e tratamento. As principais abordagens incluem técnicas de reprodução assistida, terapia medicamentosa e intervenções cirúrgicas, que visam tanto ao tratamento da infertilidade quanto à redução da obesidade. Entretanto, a promoção de hábitos de vida saudáveis, como a prática regular de atividade física, é fundamental para prevenir a obesidade e seus efeitos na fertilidade, podendo representar o método mais eficaz a longo prazo (DE ALMEIDA, 2014; MAIA et al., 2024; CANNARELLA et al., 2024).

Existem evidências na literatura relatando os benefícios de atividades físicas na fertilidade masculina, especialmente do exercício de resistência, que auxilia na perda de peso e melhora da qualidade seminal (DE ALMEIDA, 2014; MALEKI & TARTIBIAN, 2018). Apesar de a associação entre obesidade e infertilidade masculina ser bem estabelecida, ainda há lacunas no conhecimento sobre o potencial do exercício de resistência em reverter esses efeitos. Dessa forma, este estudo visa investigar os impactos da obesidade induzida por dieta hiperlipídica e do treinamento de resistência na fertilidade de camundongos machos, modelo experimental amplamente utilizado devido às suas semelhanças fisiológicas com humanos e à possibilidade de controle rigoroso das variáveis estudadas.

1.3 Pergunta norteadora

Como o exercício físico de resistência e a obesidade induzida por dieta hiperlipídica afetam a fertilidade, o perfil lipídico testicular e a espermatogênese em camundongos?

1.4 Hipótese

A obesidade altera negativamente o perfil lipídico testicular e prejudica a espermatogênese, enquanto o exercício físico exerce efeito protetor contra esses danos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito da obesidade induzida por dieta hiperlipídica e do treinamento físico de resistência sobre o perfil lipídico testicular e a espermatogênese em camundongos machos.

2.2 Específicos

- Analisar os parâmetros biométricos, incluindo peso corporal, peso testicular e a relação peso testicular/peso corporal dos camundongos entre os grupos experimentais.
- Quantificar o acúmulo de gotas lipídicas testiculares por meio da coloração com Oil Red O em cortes histológicos dos diferentes grupos experimentais.
- Determinar o perfil lipídico testicular (triglicerídeos, colesterol e ácidos graxos) por cromatografia, comparando os diferentes grupos experimentais.
- Investigar os efeitos da obesidade e do exercício físico na morfometria dos túbulos seminíferos (área, diâmetro e circunferência) e a densidade de células germinativas em cortes histológicos de testículo.
- Investigar a expressão da proteína BIP por imunohistofluorescência em cortes histológicos de testículo, como marcador de homeostase testicular influenciado pela obesidade e pelo exercício físico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Comitê de ética

Os procedimentos experimentais em animais propostos no presente estudo foram aprovados institucionalmente pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), em conformidade com as Diretrizes para Princípios Éticos na Pesquisa com Animais estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Esta pesquisa está sendo realizada em colaboração com o projeto do Prof. Dr. Jean Franciesco Vettorazzi. Certificado N° 05/2023 CEUA 10.01.05.19.05.

3.2 Modelo Experimental

3.2.1 Experimentação animal

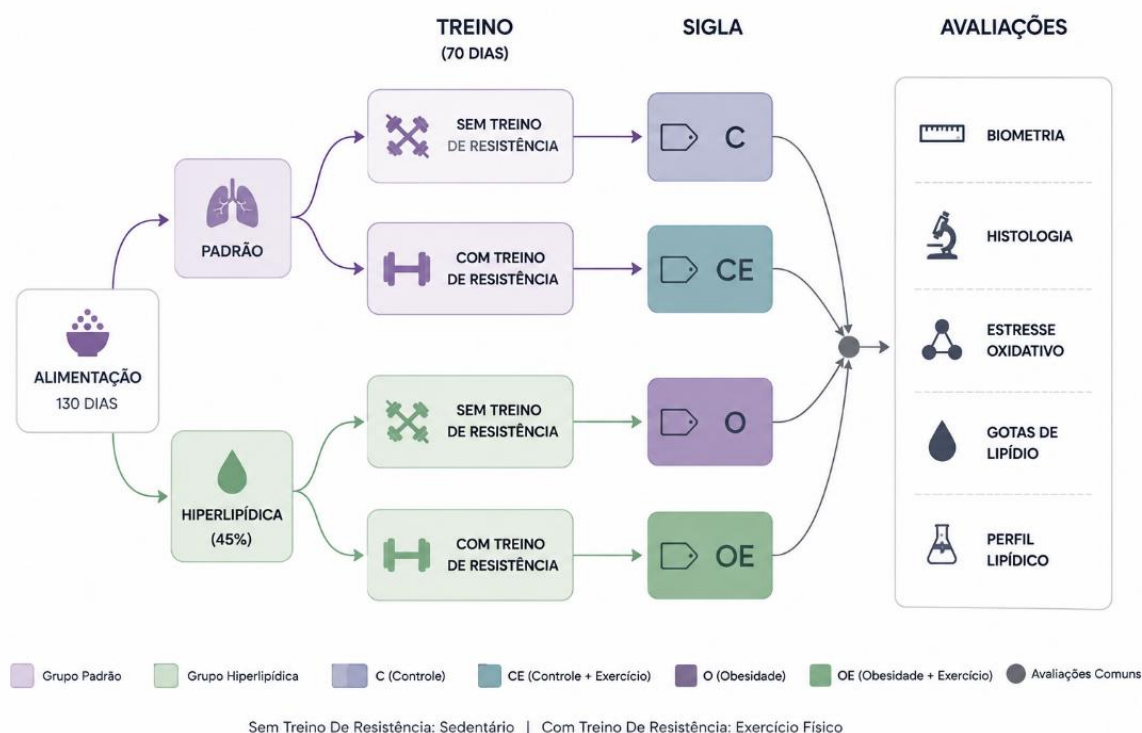
O estudo foi conduzido com 40 camundongos machos da espécie *Mus musculus*, linhagem C57BL/6, com aproximadamente 30 dias de idade ao início do experimento. Os animais foram adquiridos do Biotério Central da UNIOESTE e transferidos para o biotério

de experimentação da UNILA, onde foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22 ± 2 °C), ciclos de luz de 12 horas e umidade controlada. Os camundongos foram agrupados de acordo com a ninhada de origem, a fim de minimizar comportamentos territorialistas.

3.2.2 Delineamento experimental

Os camundongos foram distribuídos em 4 grupos experimentais (≈ 10 animais por grupo) em um delineamento fatorial 2×2 (dieta $\times$ exercício físico), conforme descrito a seguir: Controle com dieta padrão e sem exercício de resistência (C); Controle com dieta padrão e com exercício de resistência (CE); Tratado com dieta hiperlipídica e sem exercício de resistência (O); e tratado com dieta hiperlipídica e com exercício de resistência (OE). Após 60 dias de alimentação, os grupos CE e OE foram submetidos ao protocolo de exercício de resistência por 70 dias, enquanto os grupos C e O permaneceram sedentários durante o período experimental (Figura 5).

Figura 5. Modelo gráfico do delineamento experimental.



Fonte: O autor.

3.2.3 Dieta

Antes do início do protocolo de exercício, os animais do grupo controle (C e CE) receberam dieta padrão (AIN-93G, Rhostrer Indústria e Pesquisa), enquanto os animais do grupo obeso (O e OE) receberam dieta hiperlipídica com 45% de gordura (Rhostrer Indústria

e Pesquisa) ao longo de 60 dias, sendo essa manutenção dietética preservada até o término do experimento. O peso corporal dos animais foi aferido diariamente com balança de precisão para monitoramento dos parâmetros de obesidade.

3.2.4 Exercício de resistência

O exercício de resistência seguiu o protocolo descrito por Bronczek et al. (2021), no qual foi utilizada uma escada personalizada com as seguintes dimensões: 5 cm de largura, 105 cm de altura, 1 cm de distância entre os degraus e ângulo de 80° em relação ao solo. No topo da escada foi instalada uma câmara de alojamento (9 × 9 × 9 cm), na qual os animais podiam descansar entre cada subida. Um tubo de plástico cônico, com aproximadamente 5 cm de altura e 2,5 cm de diâmetro, foi utilizado como carga e fixado com fita adesiva à cauda dos animais para a realização do exercício.

Inicialmente, foi determinada a capacidade máxima de carga voluntária (CMCV) de cada animal, caracterizada pela carga máxima que o animal conseguiu subir ao longo de toda a extensão da escada. A CMCV foi definida por meio de testes progressivos, aumentando-se gradualmente a carga até que o animal não conseguiu completar a subida da escada em três tentativas consecutivas. O maior valor de carga suportado pelo animal foi considerado a CMCV. Cada sessão de treinamento incluiu 8 repetições da subida da escada, sendo 2 repetições com cada uma das quatro cargas diferentes (50%, 75%, 90% e 100% da CMCV), com intervalo de 1 minuto entre cada repetição. O treinamento foi realizado 5 vezes por semana, ao longo de 10 semanas. A CMCV foi reavaliada semanalmente ao longo das 10 semanas de treinamento, permitindo o reajuste progressivo das cargas de trabalho (50%, 75%, 90% e 100% da CMCV) conforme o ganho de força dos animais, seguindo o protocolo descrito por Bronczek et al. (2021).

3.3 Metodologia empregada

3.3.1 Biometria corporal e testicular

A obesidade promove o acúmulo de gordura visceral, o que pode resultar em isolamento térmico e consequente aumento da temperatura testicular, fator que prejudica a homeostase da espermatogênese. Além disso, existe vínculo funcional entre a massa testicular e a eficiência da produção espermática (DE ALMEIDA, 2014; DE AZEVEDO et al., 2015). Diante disso, foi realizada avaliação biométrica como indicador de integridade gonadal. Dessa forma, os animais foram pesados individualmente no dia da eutanásia, utilizando-se uma balança de precisão. Após a eutanásia, os epidídimos e testículos foram

coletados, sendo estes pesados em pares em balança de precisão para subsequente obtenção do peso médio.

A partir desses dados, foi calculado o índice gonadosomático (IGS), que indica quanto do peso corporal do animal corresponde aos testículos. O IGS foi obtido dividindo-se o peso total dos dois testículos pelo peso corporal e multiplicando-se o resultado por 100, expressando-o em porcentagem (MORAIS et al., 2009). Posteriormente, os dados foram analisados estatisticamente, comparando-se o peso testicular e o IGS entre os grupos experimentais.

3.3.2 Morfometria e densidade celular

A avaliação do diâmetro e da circunferência dos túbulos seminíferos permite aferir o estado funcional da espermatogênese, uma vez que essas estruturas são responsáveis pela produção e transporte dos espermatozoides. Além disso, a contagem das células presentes no epitélio seminífero, como as espermatogônias é fundamental para avaliar a capacidade de formação dos espermatozoides (ROBERTS & PRYOR, 1997).

O preparo histológico foi realizado após a extração dos testículos, que foram dissecados com o auxílio de um bisturi. Os fragmentos foram fixados em 500 µL de paraformaldeído a 4%, durante 24 horas em temperatura ambiente. Após esse período, o tecido foi lavado três vezes em PBS, durante cinco minutos cada, e então transferido para um tubo Eppendorf contendo etanol 70%, sendo armazenado a 4 °C. Posteriormente, as amostras fixadas foram transferidas para cassetes histológicos e enviadas ao Serviço de Anatomia Patológica do Instituto do Coração (INCOR) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), onde foram embebidas em parafina para a confecção das lâminas histológicas. Foram confeccionadas lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE) para avaliação histomorfométrica dos testículos, e outras lâminas sem corante (brancas) para outras avaliações.

As análises consistiram na mensuração do diâmetro e da circunferência médios dos túbulos seminíferos. Para cada animal, foi observado um número variável de túbulos seminíferos (9 a 13), selecionados de forma aleatória por varredura sistemática, desconsiderando-se o estágio do ciclo do epitélio seminífero. Foram incluídos apenas os túbulos com contorno mais próximo ao circular (CHO et al., 2003; MORAIS et al., 2009). Para cada animal, foi calculada a média das mensurações obtidas. A avaliação histomorfométrica foi realizada com microscópio óptico, utilizando objetiva de 20 ×, com

auxílio do software ZEISS Labscope para captura de imagens digitais, que foram subsequentemente avaliadas com o software ImageJ® (National Institute of Health, USA).

3.3.3 Gotas de lipídio

O equilíbrio do conteúdo lipídico é essencial para a espermatogênese: baixos níveis comprometem sua função como substrato energético e estrutural, enquanto altos níveis resultam em danos oxidativos. O aumento acentuado nos níveis de colesterol livre e esterificado, monoglicerídeos e triglicerídeos causa acúmulo de lipídios testiculares, resultando em infertilidade. Dessa forma, foi realizada a quantificação de gotículas lipídicas em cortes histológicos dos testículos utilizando a coloração de Oil Red O (ORO), que apresenta afinidade por lipídios neutros, incluindo triglicerídeos e ésteres de colesterol, presentes em gotículas lipídicas. O objetivo foi identificar alterações quantitativas nos depósitos lipídicos testiculares entre os grupos experimentais (SALVADOR, 2014).

Para a avaliação de ORO, foram utilizadas lâminas sem coloração com cortes histológicos dos testículos, submetidas ao processo de desparafinização conforme descrito anteriormente, finalizando com reidratação em PBS por 10 minutos, seguida do protocolo de coloração. Para a detecção de gotículas lipídicas, as amostras foram processadas seguindo as instruções do fabricante (Sigma-Aldrich, 2025). Após enxágue em água deionizada, as secções foram coradas com solução de trabalho de ORO (6 partes de solução estoque para 4 partes de água deionizada) por 6 a 15 minutos. A solução estoque foi preparada com 99 mL de álcool isopropílico e 1,04 g de ORO (solução saturada). A montagem das lâminas foi realizada com glicerina diluída (1,5 mL de glicerina e 0,5 mL de água destilada), vedada com lamínula e esmalte transparente.

A avaliação foi realizada com microscópio óptico, utilizando objetiva de 20 ×, com auxílio do software ZEISS Labscope para captura de imagens digitais, que foram subsequentemente analisadas com o software ImageJ® (National Institute of Health, USA).

3.3.4 Análise por imunofluorescência da expressão da proteína BIP

Para avaliar a qualidade da espermatogênese, foi analisada a expressão da BIP (*Binding Immunoglobulin Protein*/GRP78), proteína chaperona do retículo endoplasmático que atua no enovelamento de proteínas e é marcador de estresse celular. O acúmulo de lipídios nas células testiculares, induzido pela obesidade, pode desencadear estresse do

RE, tornando a BIP um indicador relevante para avaliar os efeitos da obesidade e do exercício físico sobre a homeostase testicular (LUO et al., 2006).

Para isso, foram utilizadas lâminas sem coloração com cortes histológicos dos testículos para análise por imunofluorescência da BIP. As lâminas foram inicialmente submetidas à desparafinização em dois banhos de xilol por 10 minutos cada. A reidratação do tecido foi realizada por meio de séries decrescentes de etanol, com dois banhos de 10 minutos em álcool 100%, seguidos de passagens de 5 minutos em álcool 95%, 70% e 50%. Após lavagem em água deionizada, as lâminas foram reidratadas em PBS por 10 minutos.

As amostras foram bloqueadas com 100 µL de tampão de bloqueio (3% BSA diluídos em PBS-T) por 1 hora em temperatura ambiente. Em seguida, o anticorpo primário anti-BIP foi aplicado na diluição de 1:200 em tampão de diluição (PBS-T contendo 1% BSA), e as lâminas foram incubadas com lamínula a 4 °C durante a noite em câmara úmida. No dia seguinte, foram realizadas três lavagens de 10 minutos com PBS-T, seguidas da incubação com anticorpo secundário anti-rabbit na diluição de 1:400 por 1 hora em temperatura ambiente, mantendo-se as lâminas protegidas da luz.

Posteriormente, foram realizadas mais três lavagens com PBS-T por 10 minutos, seguidas de incubação com Hoechst para contraste dos núcleos celulares por 5 minutos em temperatura ambiente. O protocolo foi finalizado com três lavagens de 10 minutos em PBS-T, aplicação de lamínula e selagem com esmalte para posterior análise em microscópio de fluorescência. A avaliação foi realizada com microscópio de fluorescência, utilizando objetiva de 20×, com auxílio do software NIS-Elements (Nikon Instruments Inc., 2026) para captura de imagens digitais, que foram subsequentemente analisadas com o software ImageJ® (National Institute of Health, USA).

3.3.5 Perfil Lipídico

Os lipídios desempenham papel essencial no controle da espermatogênese e da esteroidogênese, estando envolvidos no metabolismo energético, síntese hormonal, manutenção, proliferação e diferenciação celular. Assim, foi analisado por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) o perfil lipídico nos testículos dos quatro grupos experimentais. A CG-DIC permite determinar e quantificar os ácidos graxos, principais componentes dos triglicerídeos e do colesterol (CARDOSO, 2009; LOURENÇO et al., 2021).

Os testículos foram lavados em PBS e armazenados a -20 °C para posterior extração dos lipídios, realizada a partir de protocolo adaptado da metodologia de Bligh & Dyer (1959).

Utilizando um testículo completo por animal como amostra, foram adicionados os solventes (clorofórmio, metanol e água) e homogeneizados com Ultra-Turrax. A derivatização dos lipídios foi realizada a partir de protocolo adaptado da metodologia de Santos Júnior et al. (2014), com uso de tricosanoato de metila como solução padrão interno do Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e de Alimentos (LEIMAA), coordenado pela professora Aline Toci. O protocolo adaptado e detalhado utilizado para a extração e derivatização dos lipídios encontra-se descrito no Anexo C.

As amostras preparadas foram analisadas por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama (CG-DIC) no Laboratório de Cromatografia e Preparo de Amostras (CROMATO), no PTI, em colaboração com a professora Aline Theodoro Toci. As análises dos FAMES e das amostras foram realizadas em um cromatógrafo a gás (CG-DIC) (modelo TR-1310, Thermo Scientific™), equipado com coluna TR-FAME (120 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 μm) com fase polar (70% cianopropil-polissifenileno-siloxano) e detector de ionização em chama, operando em modo split com fluxo de 120 mL min^{-1} . Os fluxos dos gases foram de 30 mL min^{-1} para o gás de arraste (H_2), 40 mL min^{-1} para o gás auxiliar (N_2) e 300 mL min^{-1} para ar sintético. As temperaturas do injetor e do detector foram de 230 e 225 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

As injeções foram realizadas em duplicata, com volume de injeção de 1 μL . A programação de temperatura da coluna iniciou-se em 180 $^{\circ}\text{C}$ por 12 minutos, aumentando a uma taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 190 $^{\circ}\text{C}$ (1 minuto), seguida de aumento de 1 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 210 $^{\circ}\text{C}$ (4 minutos) e, finalmente, aumento de 15 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 240 $^{\circ}\text{C}$, temperatura mantida por 10 minutos, totalizando 51 minutos de análise. A razão de split foi de 1:109 com volume de injeção das amostras de 1 μL .

As áreas dos picos foram determinadas por meio do software Chromeleon 7, e os resultados expressos em porcentagem de área relativa (% m/m) ou mg g^{-1} de lipídios na amostra, de acordo com Joseph & Ackman (1992). Os FAMES foram identificados pela comparação dos tempos de retenção dos constituintes das amostras em relação ao padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco® 37 Component FAME Mix, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA).

3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SigmaPlot 14.0 (Systat Software, Inc., Califórnia, EUA). A normalidade dos dados e a homogeneidade das

variâncias foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe, respectivamente. Para as variáveis que não atenderam aos pressupostos de normalidade (especificamente número de espermatozônios), foi aplicada transformação logarítmica ($\log_{10}$) antes da análise inferencial.

As comparações entre os grupos experimentais foram conduzidas por meio de análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para comparações múltiplas *post hoc*. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Para todas as análises, considerou-se o nível de significância de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Análise Biométrica e Parâmetros Gonadossomáticos

Os pesos corporais individuais dos animais, aferidos no primeiro e no último dia do protocolo experimental, estão apresentados na Tabela 3. Em média, os animais do grupo controle (C) apresentaram peso inicial de $21,68 \pm 0,97$ g e peso final de $27,34 \pm 1,34$ g, enquanto o grupo controle exercitado (CE) apresentou peso inicial de $20,66 \pm 0,59$ g e peso final de $24,00 \pm 0,47$ g. Nos grupos submetidos à dieta hiperlipídica, o peso inicial médio foi de $21,45 \pm 0,55$ g e o peso final médio de $37,01 \pm 2,41$ g no grupo obeso (O), e de $22,42 \pm 0,83$ g e $30,82 \pm 2,20$ g no grupo obeso com exercício (OE), confirmando o efeito esperado da dieta hiperlipídica sobre o ganho de massa corporal.

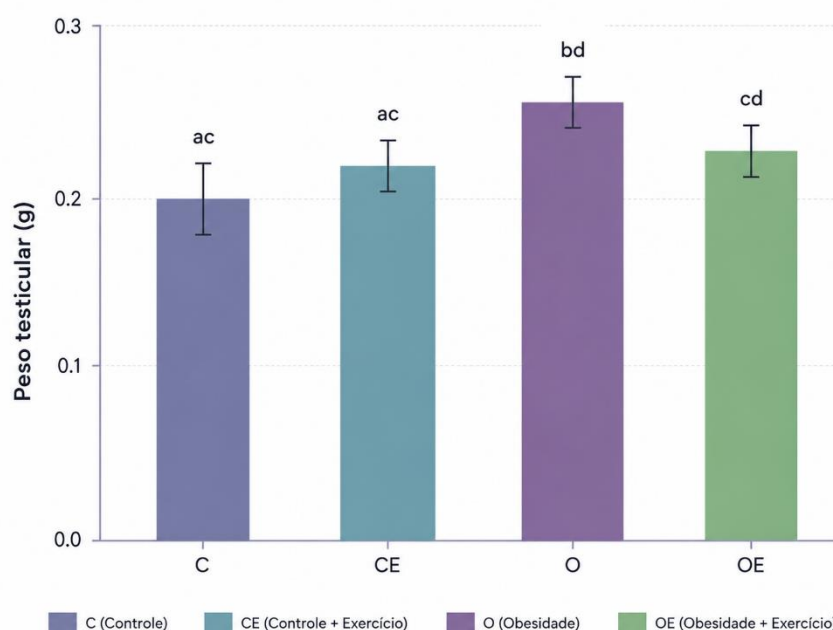
Tabela 3 – Peso corporal inicial, final e peso testicular individual dos camundongos nos diferentes grupos experimentais.

ID	Peso dia 1 (g)	Peso último dia (g)	Peso testicular (g)
GRUPO C – CONTROLE (SEM EXERCÍCIO)			
Média	21,68	27,34	0,2167
GRUPO CE – CONTROLE + EXERCÍCIO			
Média	20,66	24,00	0,2009
GRUPO O – OBESO (SEM EXERCÍCIO)			
Média	21,45	37,00	0,1902
GRUPO OE – OBESO + EXERCÍCIO			
Média	22,42	30,82	0,2130

A avaliação do peso absoluto dos testículos e sua relação com a massa corporal total constitui o primeiro indicativo da saúde reprodutiva e do estado metabólico do animal. Conforme observado nos dados analisados, a obesidade induzida por dieta hiperlipídica promoveu alterações significativas na massa das gônadas dos camundongos. O peso dos testículos no grupo obeso sem exercício (O) apresentou os maiores valores absolutos registrados ($0,239 \pm 0,00368$), demonstrando diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos controle sem exercício (C) ($0,201 \pm 0,0111$) e controle com exercício (CE) ($0,216 \pm 0,00556$), conforme indicado pelos índices de significância. Já o peso testicular no grupo obeso com exercício (OE) ($0,221 \pm 0,00332$) apresentou redução em relação ao grupo O, aproximando-se dos valores dos grupos controle (Gráfico 1).

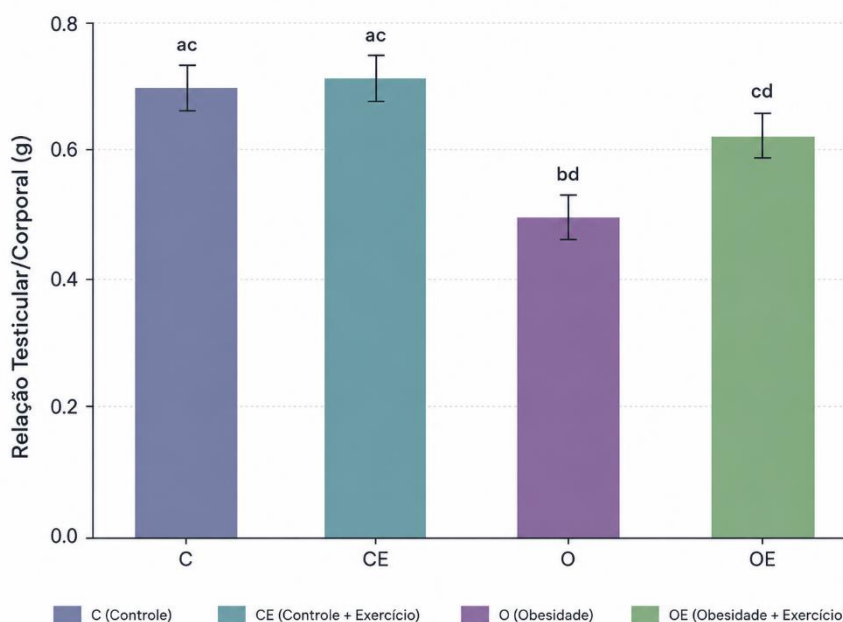
Referente ao índice gonadosômático, definido como a razão entre o peso dos testículos e o peso corporal total, observa-se que o grupo obeso sem exercício (O) apresentou a menor razão entre peso testicular e corporal ($0,526 \pm 0,0338$). Esse fenômeno evidencia que, embora o peso absoluto do testículo tenha aumentado, esse ganho não acompanhou a expansão massiva da massa corporal. Nos grupos controle, a razão foi significativamente maior, não havendo diferença estatística entre o grupo controle sem exercício ($0,721 \pm 0,0386$) e o grupo controle com exercício ($0,728 \pm 0,0325$), como demonstrado no gráfico 2.

Gráfico 1 – Peso testicular absoluto de camundongos submetidos à obesidade e ao exercício físico.



Legenda: Os dados estão expressos em gramas (g) e representados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Gráfico 2 – Índice gonadossomático, representado pela relação entre o peso testicular e o peso corporal, nos diferentes grupos experimentais.



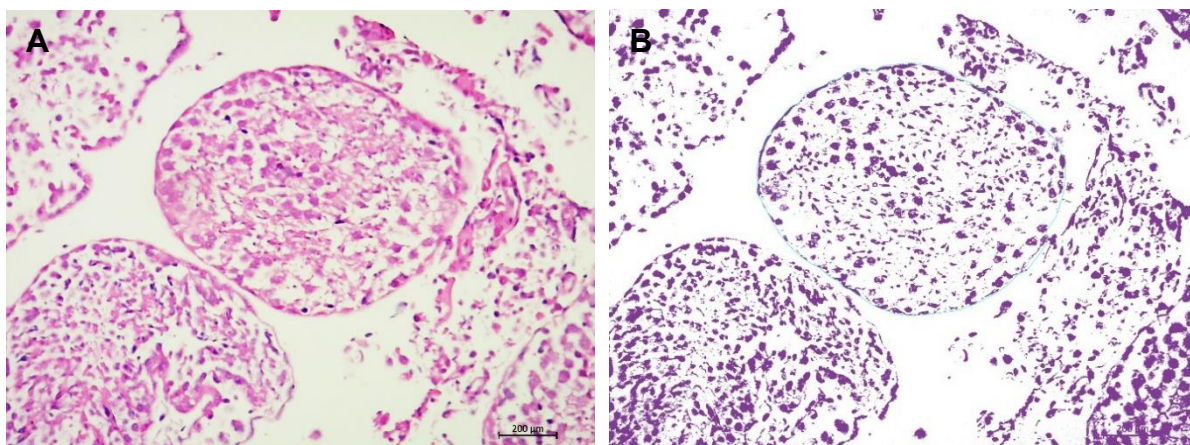
Legenda: A relação foi calculada pela razão entre a média do peso dos testículos (g) e o peso corporal total (g), sendo representados como média $\pm$ erro padrão da média (*SEM*). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Em contrapartida, no grupo obeso com exercício (OE), a prática do exercício físico resistido demonstrou papel crucial na modulação desses parâmetros. Isso foi evidenciado pela razão do peso testicular:corporal no grupo OE ($0,627 \pm 0,0214$), representando melhora significativa em comparação ao grupo obeso sem exercício (O), que permaneceu sedentário (Gráfico 2). Esse dado sugere que o treinamento de força auxilia na redistribuição da massa corporal, atenuando o desequilíbrio entre o crescimento testicular e a expansão da massa corporal total induzido pela obesidade.

4.2 Morfometria testicular e densidade celular

A análise histomorfométrica dos túbulos seminíferos (Figura 6), onde ocorre o processo de espermatogênese, buscou identificar alterações no diâmetro tubular e no número de espermatogônias.

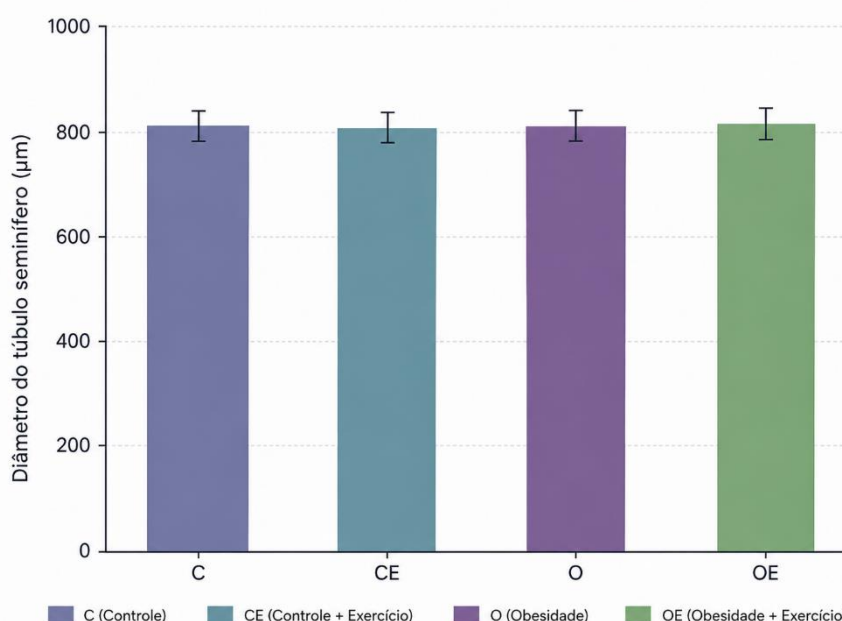
Figura 6 – Fotomicrografia de túbulo seminífero de camundongo corado por hematoxilina e eosina (HE) e processamento digital para análise histomorfométrica.



Legenda: (A) Imagem original evidenciando a morfologia dos túbulos seminíferos em coloração Hematoxilina e Eosina (H&E). (B) Aplicação do plugin Colour Deconvolution (vetor H&E2) no software ImageJ para isolamento do componente da hematoxilina, facilitando a identificação nuclear. A função Cell Counter foi utilizada sobre a imagem processada para a quantificação celular. Barra de escala: 200 µm.

Quanto ao diâmetro dos túbulos seminíferos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os quatro grupos experimentais ($p = 0,989$). Os valores variaram de $808,63 \pm 7,32 \mu\text{m}$ no grupo controle com exercício (CE) a $812,84 \pm 8,89 \mu\text{m}$ no grupo obeso com exercício (OE), enquanto os grupos controle sem exercício (C) e obeso sem exercício (O) apresentaram valores de $810,44 \pm 10,58 \mu\text{m}$ e $812,65 \pm 15,32 \mu\text{m}$, respectivamente. A diferença máxima entre os grupos foi de apenas $4,2 \mu\text{m}$ (Gráfico 3).

Gráfico 3. Diâmetro dos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.



Legenda: Os dados estão expressos em micrômetros (µm) e representados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

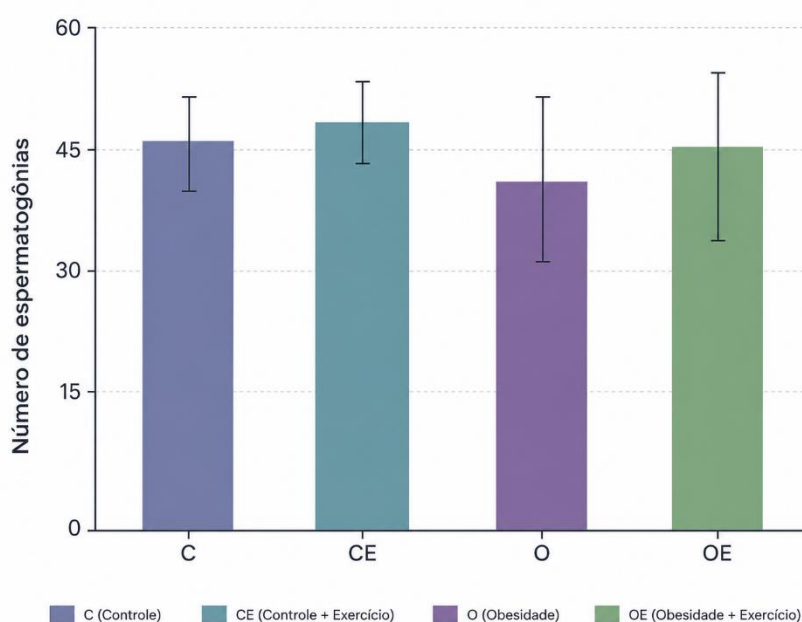
Da mesma forma, o número de espermatogônias não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,956$). As médias variaram de $43,9 \pm 5,6$ no grupo obeso sem exercício (O) a $48,8 \pm 2,3$ no grupo controle com exercício (CE), enquanto os grupos controle sem exercício (C) e obeso com exercício (OE) apresentaram médias de $46,3 \pm 3,5$ e $46,6 \pm 8,0$ espermatogônias, respectivamente (Gráfico 4).

Adicionalmente, a análise fatorial 2×2 permitiu avaliar isoladamente os efeitos da obesidade e do exercício físico, bem como a interação entre esses fatores. Não foi observado efeito estatisticamente significativo de nenhum dos fatores isolados (obesidade ou exercício) nem da interação entre ambos sobre o diâmetro dos túbulos seminíferos ou o número de espermatogônias, conforme detalhado na Tabela 3.

Tabela 4. Valores de P do efeito da obesidade, do exercício condicionado e da interação entre ambos sobre o diâmetro dos túbulos seminíferos e do número de espermatogônias

Efeito	Diâmetro do túbulo seminífero	Número de espermatogônias
Obesidade	$p = 0,749$	$p = 0,710$
Exercício	$p = 0,942$	$p = 0,675$
Obesidade x Exercício	$p = 0,925$	$p = 0,987$

Gráfico 4. Número de espermatogônias nos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.



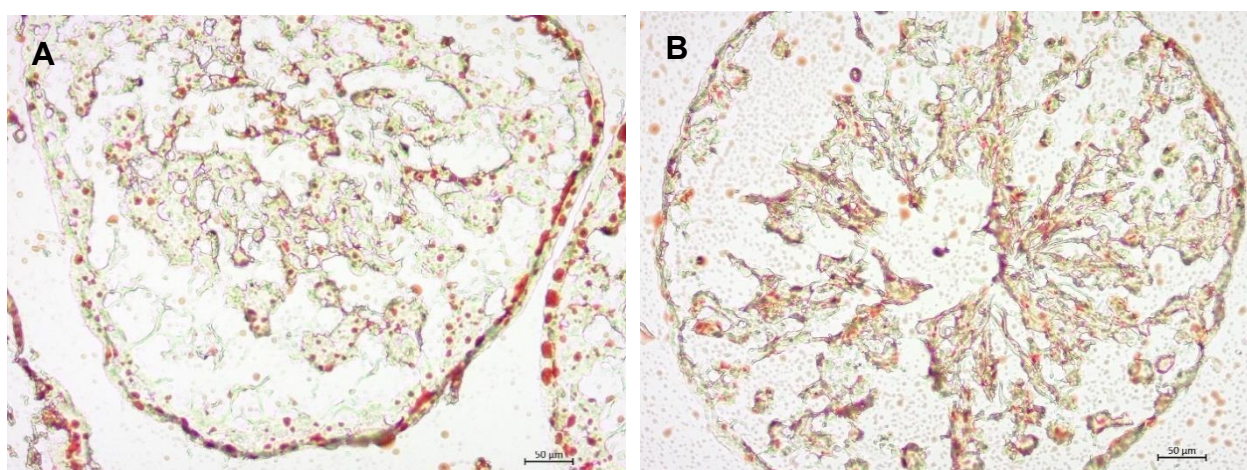
Legenda: Os dados estão expressos em número de espermatogônias (N°) e representados como média $\pm$ erro padrão da média (*SEM*). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Esses resultados indicam que a arquitetura tubular básica e a população de espermatogônias são resilientes ao estresse metabólico da obesidade e ao exercício de resistência no período avaliado.

4.3 Quantificação de gotas lipídicas por ORO

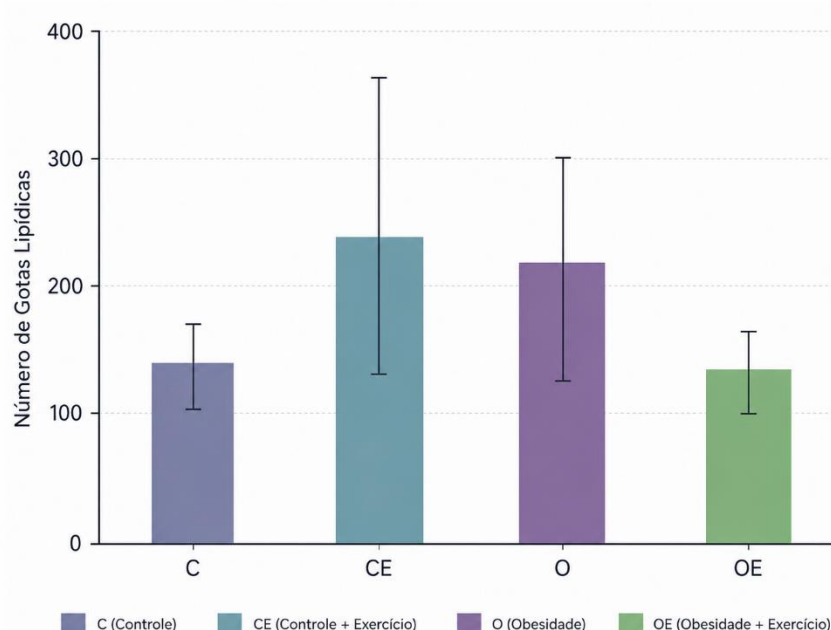
A análise histoquímica das gotas lipídicas no tecido testicular buscou avaliar possíveis alterações no acúmulo de lipídios em resposta à obesidade e ao exercício físico (Figura 7). Quanto ao número de gotas lipídicas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os quatro grupos experimentais ($p = 0,527$). Os valores variaram de $130,85 \pm 31,60$ no grupo obeso com exercício (OE) a $259,80 \pm 106,74$ no grupo controle com exercício (CE), enquanto os grupos controle sem exercício (C) e obeso sem exercício (O) apresentaram médias de $146,85 \pm 15,73$ e $219,50 \pm 79,55$, respectivamente (Gráfico 5). Apesar da diferença numérica entre os grupos, a elevada variabilidade individual, particularmente nos grupos CE e O, impediu a identificação de diferenças estatisticamente significativas.

Figura 7. Fotomicrografia de túbulos seminíferos de camundongos corados com Oil Red O, evidenciando diferença na quantidade de gotículas lipídicas entre os grupos experimentais.



Legenda: Avaliação da deposição lipídica testicular em camundongos. As imagens representam cortes histológicos de túbulos seminíferos apresentando diferentes níveis de deposição de gotas lipídicas, evidenciadas pela coloração vermelho/alaranjada. (A) Baixa deposição de gotas lipídicas; (B) Alta deposição de gotas lipídicas. Coloração: Oil Red O. Barra de escala: 50 μ m.

Gráfico 5. Quantificação das gotas lipídicas nos túbulos seminíferos de camundongos nos diferentes grupos experimentais.



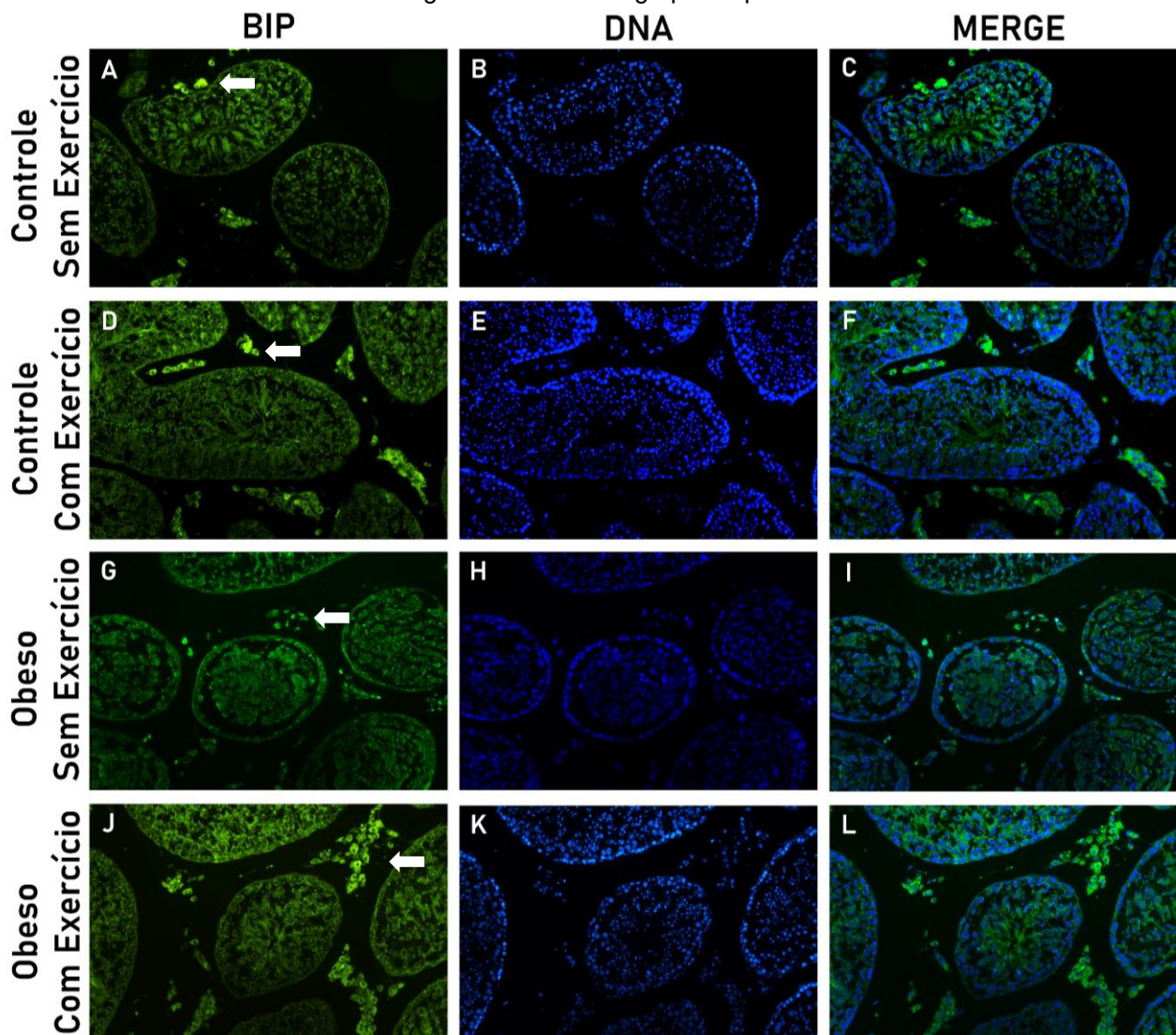
Legenda: Os dados estão expressos em quantidade de gotas lipídicas (N°) e representados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Adicionalmente, a análise fatorial 2×2 permitiu avaliar isoladamente os efeitos da obesidade e do exercício físico, bem como a interação entre esses fatores. A análise fatorial revelou ausência de efeito significativo da obesidade ($p = 1,000$), do exercício físico ($p = 0,639$) e da interação entre obesidade e exercício ($p = 0,666$) sobre o número de gotas lipídicas.

4.4 Expressão da Proteína BiP

A investigação da proteína BIP (*Binding Immunoglobulin Protein*), também denominada GRP78, forneceu evidências moleculares sobre como o estresse do retículo endoplasmático (RE) é modulado pela obesidade e pelo exercício físico no parênquima testicular. Sob condições fisiológicas normais (grupo C), a expressão da BIP revelou distribuição espacial altamente organizada e funcional, sendo significativamente maior nas células de Leydig no compartimento intersticial quando comparada às células localizadas dentro dos túbulos seminíferos (Figura 8, A-C).

Figura 8. Análise por imunofluorescência da expressão da proteína BiP no tecido testicular de camundongos dos diferentes grupos experimentais.



Legenda: Fotomicrografias representativas demonstrando a marcação da proteína BiP nos diferentes grupos experimentais: controle sem exercício (A-C); controle com exercício (D-F); obeso sem exercício (G-I) e obeso com exercício (J-L). Localização citoplasmática da proteína BiP (A, D, G e J). Contra-coloração nuclear com Hoechst (B, E, H e K). Sobreposição de ambos os canais (C, F, I e L). Setas indicam marcação da BiP nas células de Leydig.

Dentro dos túbulos seminíferos, observou-se que a BIP está presente no citoplasma de todas as linhagens celulares (espermatócitos, células de Sertoli, espermatogônias e espermátides). No grupo CE (controle com exercício), esse padrão de expressão não sofreu alterações detectáveis, indicando que, em condições normais, o exercício físico resistido não modula significativamente a BIP nos testículos (Figura 8 D-F).

A obesidade (grupo O) provocou alteração drástica e deletéria nesse padrão molecular, visto que houve redução acentuada na intensidade de fluorescência da BIP nas células de Leydig, tornando-se semelhante às células tubulares. Paralelamente, dentro dos túbulos seminíferos, a expressão da BIP também sofreu declínio em comparação aos demais grupos experimentais (Figura 8 G-I).

Notavelmente, o treinamento de resistência em animais obesos (grupo OE) foi capaz de restaurar parcialmente o padrão de expressão original da BIP. Nos testículos do grupo OE, a intensidade de fluorescência nas células de Leydig retornou a patamares superiores aos das células dos túbulos seminíferos, recuperando a configuração observada nos animais controle (Figura 8 J-L). Adicionalmente, dentro dos túbulos seminíferos, a fluorescência da BIP foi parcialmente recuperada.

4.5 Avaliação de perfil lipídico testicular por CG-DIC

A análise do perfil lipídico testicular identificou diferenças entre os grupos experimentais para cinco dos 37 lipídios avaliados, considerando-se $p < 0,05$ como critério de significância estatística. A análise fatorial 2×2 permitiu avaliar separadamente os efeitos da obesidade, do exercício físico e da interação entre esses fatores, revelando diferentes padrões de resposta entre os lipídios analisados.

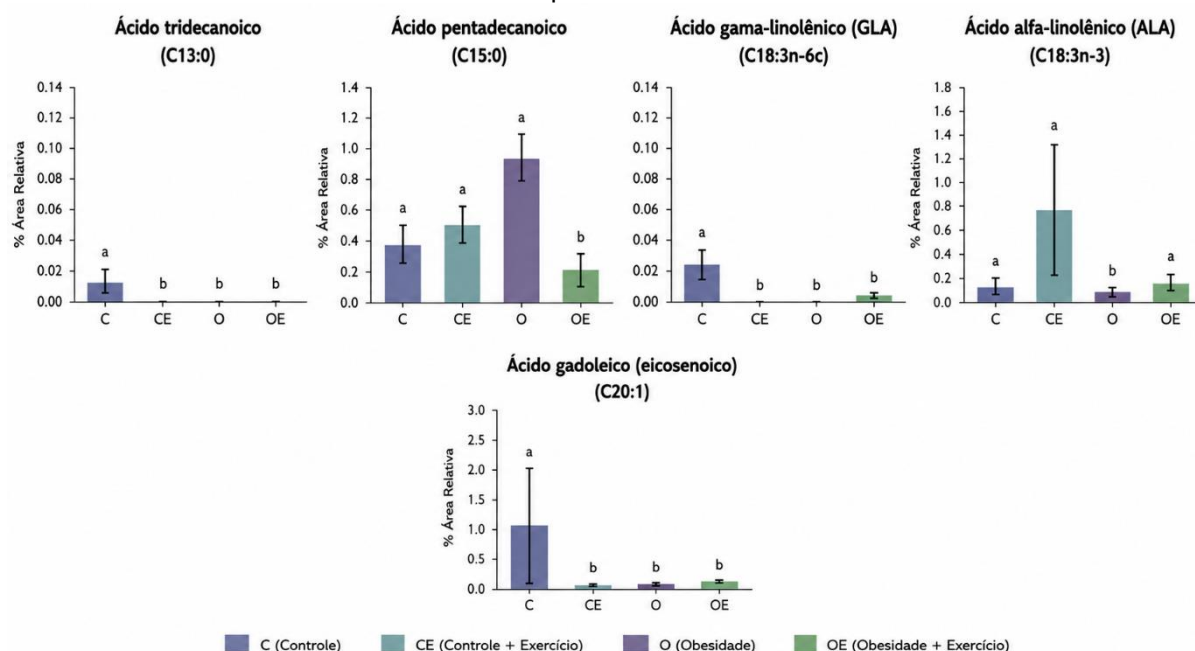
Entre os lipídios que apresentaram alterações, o ácido tridecanoico (C13:0) apresentou efeito significativo da obesidade ($p = 0,009$), do exercício físico ($p = 0,005$) e da interação entre obesidade e exercício ($p < 0,001$). A concentração foi maior no grupo controle (C; $0,01160 \pm 0,00580$ mg/g) em comparação aos grupos controle com exercício (CE), obeso (O) e obeso com exercício (OE), nos quais os valores foram próximos ou iguais a zero. A presença de interação significativa indica que o efeito do exercício sobre esse lipídio não foi independente da condição metabólica dos animais (Figura 9).

O ácido γ -linolênico (C18:3n6) seguiu padrão semelhante apresentando interação significativa entre obesidade e exercício ($p = 0,002$), além de efeito da obesidade ($p = 0,019$) e do exercício ($p = 0,014$). A concentração foi de $0,02396 \pm 0,01198$ mg/g no grupo controle (C), enquanto os grupos controle com exercício (CE) e obeso (O) apresentaram valores não detectáveis, e o grupo obeso com exercício (OE) apresentou concentração reduzida ($0,00412 \pm 0,00280$ mg/g). Esse padrão evidencia uma modificação da resposta do perfil desse ácido graxo em função da combinação entre obesidade e exercício (Figura 9).

O ácido pentadecanoico (C15:0) apresentou efeito do exercício ($p = 0,021$) e interação significativa ($p = 0,019$), porém em direção oposta aos anteriores. A maior concentração ocorreu no grupo obeso sem exercício (O; $0,92164 \pm 0,10942$ mg/g), reduzindo-se no grupo obeso com exercício (OE; $0,21535 \pm 0,12174$ mg/g), enquanto os grupos controle não diferiram entre si (C: $0,8816 \pm 0,19125$ mg/g; CE: $0,50997 \pm 0,16876$ mg/g). Nesse caso, o

exercício atenuou especificamente o acúmulo induzido pela obesidade, sem alterar a concentração nos animais controle (Figura 9).

Figura 9. Ácidos graxos testiculares com diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais.



Legenda: Concentração (mg/g) dos cinco ácidos graxos que apresentaram efeito significativo da obesidade, do exercício físico ou da interação entre ambos os fatores, determinada por (CG-DIC): ácido tridecanoico (C13:0), ácido pentadecanoico (C15:0), ácido γ -linolênico (C18:3n-6), ácido α -linolênico (C18:3n-3) e ácido gadoleico (C20:1). Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Letras distintas sobre as barras indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

Além desses lipídios, foram identificadas diferenças significativas para o ácido α -linoleico (ALA; C18:3n-3) e o ácido gadoleico (eicosenoico, C20:1), incluindo interação entre obesidade e exercício, indicando que a resposta desses componentes lipídicos também foi influenciada pela combinação dos dois fatores experimentais (Figura 9).

De maneira geral, esses resultados demonstram que, embora a maior parte dos lipídios avaliados não tenha sido significativamente alterada, alguns componentes específicos do perfil lipídico testicular responderam à obesidade e/ou ao exercício físico, com destaque para aqueles que apresentaram interação entre os dois fatores. A presença de interação indica que o efeito do exercício não pode ser interpretado de forma independente do estado metabólico, sugerindo uma resposta diferencial do metabolismo lipídico testicular à intervenção física em animais obesos.

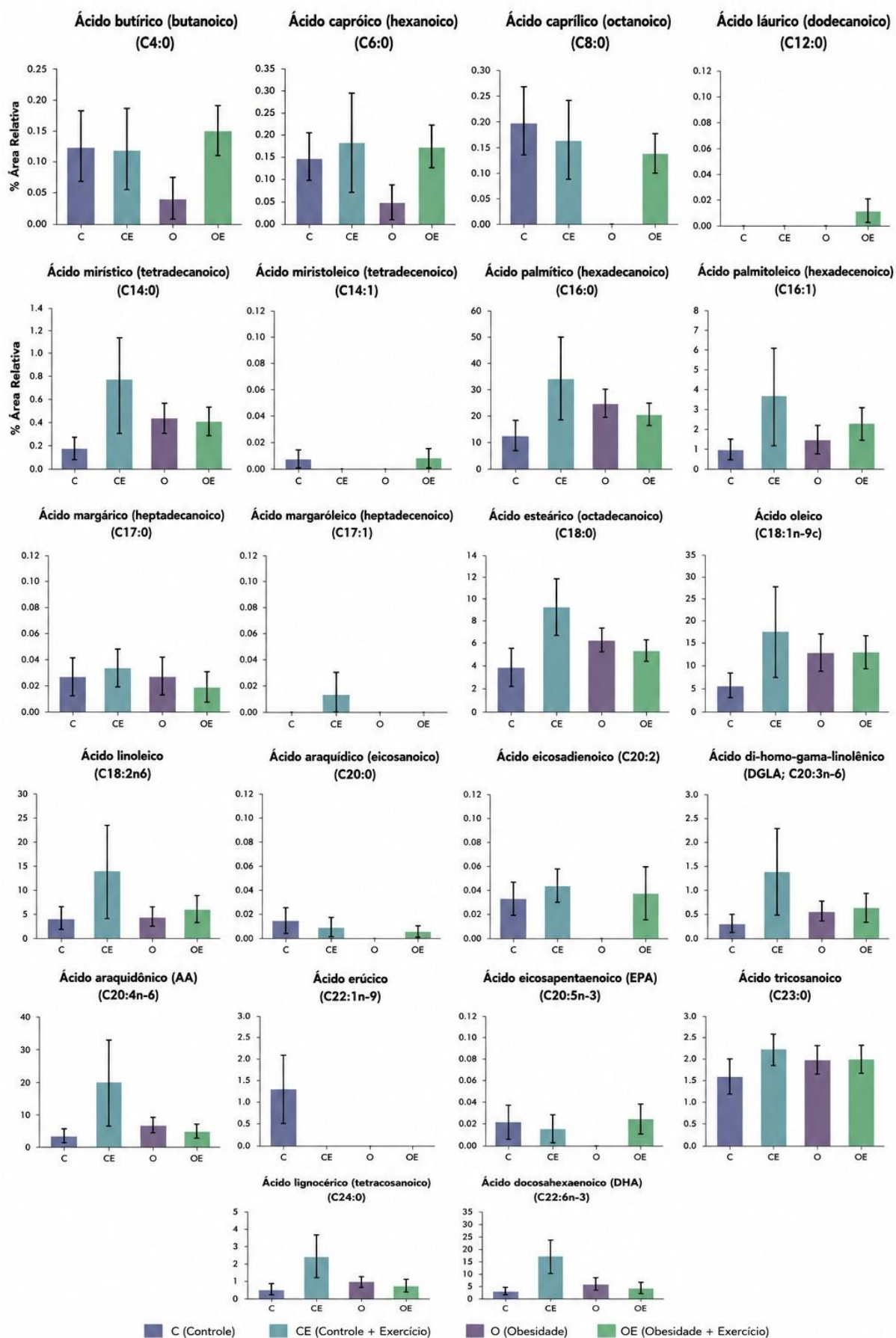
Para os seguintes lipídios detectados no tecido testicular: Ácido butírico (butanoico; C4:0), ácido caproico (hexanoico; C6:0), ácido caprílico (octanoico; C8:0), ácido láurico (dodecanoico; C12:0), ácido mirístico (tetradecanoico; C14:0), ácido miristoleico

(tetradecenoico; C14:1), ácido palmítico (hexadecanoico; C16:0), ácido palmitoleico (hexadecenoico; C16:1), ácido margárico (heptadecanoico; C17:0), ácido heptadecenoico (margaroleico; C17:1), ácido esteárico (octadecanoico; C18:0), ácido oleico (C18:1n-9c), ácido linoleico (C18:2n6), ácido araquídico (eicosanoico; C20:0), ácido eicosadienoico (C20:2), ácido di-homo-gama-linolênico (DGLA; C20:3n-6), ácido araquidônico (AA, C20:4n-6), ácido erúico; (C22:1n-9), ácido eicosapentaenoico (EPA; C20:5n-3), ácido tricosanoico (C23:0), ácido lignocérico (tetracosanoico; C24:0) e ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6n-3), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os fatores experimentais, considerando $p < 0,05$ (Figura 10). A análise fatorial não identificou efeitos significativos da obesidade, do exercício físico ou da interação entre esses fatores para esses componentes. Dessa forma, apesar de algumas variações numéricas nas concentrações entre C, CE, O e OE, essas diferenças não foram suficientes para demonstrar alterações estatisticamente significativas nas condições experimentais avaliadas.

Esse resultado indica que a resposta do lipidoma testicular à obesidade e ao exercício não foi uniforme entre os diferentes ácidos graxos, apresentando-se restrita a um subconjunto específico dos lipídios quantificados.

Por fim, dez dos 37 lipídios analisados não foram detectados em nenhum dos grupos experimentais, apresentando valores iguais a zero em todas as amostras. Como não houve detecção dos lipídios: ácido cáprico (decanoico; C10:0), ácido undecanoico (C11:0), ácido pentadecenoico (C15:1), ácido elaídico (isômero trans do ácido oleico; C18:1n-9t), ácido octadecenoico n-6 (C18:n6), ácido heneicosanoico (C21:0), ácido eicosatrienoico (ETE; C20:3n-3), ácido behênico (docosanoico; C22:0), ácido docosadienoico (C22:2) e ácido nervônico (tetracosenoico; C24:1) em nenhum dos grupos, não foi possível realizar uma comparação estatística entre os tratamentos. Esses resultados indicam que, nas condições experimentais e no limite de detecção do método empregado, esses lipídios não apresentaram concentração mensurável no tecido testicular dos animais avaliados.

Figura 10. Ácidos graxos testiculares sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais



Legenda: Concentração (mg/g) dos 22 ácidos graxos detectados no tecido testicular que não apresentaram efeito significativo da obesidade, do exercício físico ou da interação entre ambos os fatores, determinada por (CG-DIC). Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média ($p \geq 0,05$ para todos os efeitos avaliados: obesidade, exercício e interação).

5 DISCUSSÃO

5.1 Efeito da obesidade e do exercício sobre o peso testicular e índice gonadossomático

O aumento do peso testicular absoluto no grupo obeso sedentário (O) é, à primeira vista, um resultado contraintuitivo. Isso porque a maior parte da literatura associa a obesidade mostra o comprometimento, e não o aumento da massa gonadal (ZHAO et al., 2014; PEREIRA et al., 2025). Esse achado, no entanto, se torna coerente quando interpretado à luz do índice gonadossomático (IGS). A razão entre peso testicular e peso corporal foi significativamente menor no grupo O do que nos grupos controle, revelando que o ganho de peso testicular absoluto não acompanhou, sendo proporcionalmente superado pelo ganho de massa corporal total induzido pela dieta hiperlipídica. Esse descompasso é compatível com relatos prévios de que o aumento do peso testicular absoluto em modelos de obesidade pode refletir edema intersticial, infiltração de macrófagos e expansão do compartimento adiposo peritesticular e intersticial, e não necessariamente hipertrofia funcional do parênquima espermato gênico (WANG et al., 2015; CRISÓSTOMO et al., 2020). Assim, o peso absoluto isoladamente seria um indicador enganoso da saúde gonadal nesse modelo, reforçando a importância de sua normalização pela massa corporal.

O exercício físico resistido atenuou parcialmente esse desequilíbrio. O grupo obeso com exercício (OE) apresentou IGS significativamente maior do que o grupo O, aproximando-se, embora sem normalizar completamente, dos valores dos grupos controle. Esse resultado converge com a literatura que descreve o exercício físico como capaz de reduzir a adiposidade peritesticular e melhorar a termorregulação e a proporcionalidade da massa gonadal em relação à massa corporal total (SILVA et al., 2022), mecanismo atribuído, ao menos em parte, à redução da gordura visceral e à modulação de miocinas com efeito sistêmico sobre o metabolismo lipídico (ABEDPOOR et al., 2024). O fato de a recuperação ter sido parcial, e não completa, sugere que 70 dias de treinamento resistido foram suficientes para atenuar, mas não reverter integralmente, o desequilíbrio induzido por 60 dias prévios de dieta hiperlipídica isolada seguidos de mais um período de dieta concomitante ao exercício. Esse achado consistente com a natureza dose- e tempo-

dependente da resposta adaptativa ao exercício já descrita na literatura (ADELOWO et al., 2024).

5.2 Ausência de efeito sobre a morfometria tubular e a população de espermatogônias

Diferentemente do observado para os parâmetros biométricos, nem a obesidade nem o exercício físico alteraram o diâmetro dos túbulos seminíferos ou o número de espermatogônias por túbulo. Esse resultado merece ser discutido com cautela, pois pode ser interpretado de duas formas não excludentes. A primeira é biológica: a arquitetura tubular básica e o compartimento de células-tronco espermatogoniais parecem ser relativamente resistentes ao estresse metabólico induzido por dieta hiperlipídica, ao menos dentro do período experimental avaliado, o que é compatível com a noção de que a espermatogônia, devido ao seu papel de reserva germinativa de longo prazo, está sujeita a mecanismos de proteção mais robustos do que os observados em células mais diferenciadas, como espermatócitos e espermátides, ou do que os observados na função endócrina das células de Leydig (ZHAO et al., 2014). A segunda interpretação é metodológica. Alterações mais sutis na morfometria tubular podem não ser detectáveis por mensuração de diâmetro e contagem simples de espermatogônias, sendo necessárias abordagens mais sensíveis, como estereologia quantitativa completa do epitélio seminífero ou avaliação de marcadores de proliferação e apoptose célula-específicos para capturar eventuais alterações discretas. De qualquer forma, esse achado indica que, nas condições do presente estudo, os efeitos deletérios da obesidade sobre a espermatogênese, quando presentes, atuam preferencialmente por vias funcionais e moleculares (discutidas a seguir), e não por remodelamento estrutural grosseiro do epitélio seminífero. Cenário também relatado por outros autores que descrevem dissociação entre alterações histomorfométricas e funcionais na infertilidade associada à obesidade (CRISÓSTOMO et al., 2020).

5.3 A obesidade e exercício não afetam a quantidade de gotas lipídicas nos túbulos seminíferos

O número de gotas lipídicas testiculares, quantificado por Oil Red O, também não diferiu estatisticamente entre os grupos, mas esse resultado precisa ser interpretado de forma distinta dos anteriores. A elevada variabilidade individual observada, particularmente

nos grupos controle com exercício (CE) e obeso sem exercício (O), foi determinante para a ausência de significância estatística, e sua origem foi investigada mais a fundo. A análise da distribuição dos dados não identificou outliers estatísticos, e como aproximadamente dez túbulos foram avaliados por animal, foi possível constatar que a contagem de gotas lipídicas foi consistente entre os túbulos de um mesmo indivíduo. Assim animais com alta densidade de gotas mantiveram esse padrão de forma homogênea ao longo de todos os túbulos analisados, e o mesmo ocorreu para os animais com baixa densidade. Esse padrão indica que a variabilidade observada é de natureza biológica, refletindo diferenças reais entre indivíduos quanto ao acúmulo lipídico testicular, e não artefato de amostragem de túbulos dentro de um mesmo animal ou erro de mensuração pontual.

Essa constatação tem implicação direta sobre a interpretação do resultado. O *n* utilizado no presente estudo (quatro animais por grupo) foi insuficiente para conferir poder estatístico adequado diante dessa heterogeneidade interindividual, o que não permite concluir pela ausência de efeito biológico da obesidade e do exercício sobre o acúmulo lipídico testicular. Sugerindo assim que o desenho amostral não foi capaz de detectá-lo com significância estatística. Esse é um ponto relevante para a literatura da área, já que o acúmulo de gotículas lipídicas em células de Leydig e Sertoli é amplamente descrito como marcador de desregulação metabólica testicular induzida pela obesidade (YI et al., 2020; WANG et al., 2015; CRISÓSTOMO et al., 2020), e a ausência de significância neste estudo específico não deve ser tomada como contradição a essa literatura, mas como uma limitação amostral a ser corrigida em investigações futuras com maior número de animais por grupo.

5.4 Comprometimento da expressão da BiP em resposta à obesidade e sua atenuação pelo exercício

O padrão de expressão da proteína BiP (GRP78) nos animais controle, predominante nas células de Leydig em relação às células intratubulares, com gradiente adicional entre espermatócitos, células de Sertoli, espermatogônias e espermátides, é consistente com a elevada demanda secretora dessas células. As células de Leydig, responsáveis por mais de 90% da produção de testosterona do organismo, dependem intensamente da maquinaria de dobramento proteico do retículo endoplasmático (RE) para sustentar a esteroidogênese contínua, o que justifica a maior expressão basal de chaperonas como a BiP nesse tipo celular (ABEDPOOR et al., 2024).

A redução acentuada da expressão de BiP nas células de Leydig dos animais obesos (grupo O), a ponto de se tornar equivalente à das células tubulares, é um achado que exige contextualização cuidadosa frente à literatura sobre GRP78/BiP em outros tecidos metabolicamente ativos. Em tecido adiposo, fígado e músculo esquelético de humanos e roedores obesos, o padrão mais comumente descrito é o oposto. A obesidade tipicamente eleva a expressão de GRP78/BiP, como parte da resposta adaptativa do unfolded protein response (UPR) frente ao acúmulo de proteínas mal enoveladas induzido pela lipotoxicidade crônica (KHADIR et al., 2016).

Contudo, essa aparente discrepância pode ser reconciliada por evidências de que, sob estresse lipotóxico intenso e sustentado, a capacidade adaptativa da célula pode entrar em colapso. Em hepatócitos expostos a concentrações elevadas de palmitato, por exemplo, observou-se aumento transcrricional de GRP78/BiP concomitante à redução de sua abundância proteica. Esse fenômeno é atribuído à falência da capacidade de síntese e/ou estabilização da chaperona diante de demanda de dobramento proteico que excede a capacidade adaptativa da célula (WU et al., 2024). A redução da BiP nas células de Leydig dos animais obesos deste estudo é compatível com esse cenário de exaustão da resposta protetora do RE, e não com ausência de estresse do RE.

Essa interpretação é reforçada pela literatura que associa a obesidade à acúmulo lipídico, disfunção mitocondrial e ativação de vias apoptóticas nas células de Leydig, incluindo elevação da razão Bax/Bcl-2 e ativação de caspase-3 (ZHAO et al., 2014; TOLOUEI AZAR et al., 2020). De fato, ácidos graxos saturados como o palmitato e o próprio ácido esteárico, discutido adiante como um dos lipídios alterados pelo presente estudo, são descritos como indutores diretos de apoptose em células de Leydig por geração de ceramida (LU et al., 2003), fornecendo um mecanismo molecular plausível para a perda da capacidade protetora do RE observada nesse tipo celular.

O padrão de redução da BiP no grupo obeso, sugere que o comprometimento da homeostase do RE não se restringiu ao compartimento intersticial, atingindo também as células germinativas, reconhecidamente vulnerável a estresse metabólico e oxidativo.

Notavelmente, o treinamento resistido restaurou parcialmente esse padrão no grupo OE, com recuperação da predominância da marcação intersticial sobre a tubular e da marcação das células tubulares. Esse achado é consistente com a capacidade já demonstrada do exercício físico de atenuar o estresse do RE em outros tecidos metabolicamente relevantes.

Em humanos com obesidade, um programa supervisionado de exercício de três meses reduziu significativamente a expressão e a liberação de GRP78 no tecido adiposo subcutâneo, com redução concomitante da fosforilação de IRE1 α e eIF2 α (KHADIR et al., 2016). Em modelos animais, o treinamento de resistência atenuou o estresse do RE no fígado e no tecido adiposo de ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica (da LUZ et al., 2011), com efeitos semelhantes descritos também no coração e no músculo esquelético sob diferentes protocolos de treinamento (LI et al., 2022; SUN et al., 2026).

Embora não tenham sido localizados estudos prévios que tenham investigado especificamente a modulação da BiP testicular pelo exercício físico, o presente achado é biologicamente coerente com o mecanismo mais amplo pelo qual o exercício melhora a capacidade antioxidante e mitocondrial celular, reduzindo a geração de espécies reativas de oxigênio que constituem um dos principais gatilhos do estresse do RE (ABEDPOOR et al., 2024).

Esse resultado representa, portanto, uma contribuição original deste estudo à literatura, ao sugerir que a restauração da homeostase do RE nas células de Leydig integra os mecanismos pelos quais o exercício resistido atenua os efeitos deletérios da obesidade sobre a esteroidogênese testicular. Essa hipótese merece confirmação por estudos futuros que avaliem, por exemplo, os níveis séricos e teciduais de testosterona em paralelo à expressão de BiP e de outros marcadores do UPR (ex. CHOP, ATF6, IRE1 α , PERK).

5.5 Efeito da obesidade e do exercício no perfil de ácidos graxos testiculares

Do total de 37 ácidos graxos quantificados, apenas um subconjunto restrito apresentou alteração estatisticamente significativa em função da obesidade e/ou do exercício, indicando que a resposta do lipidoma testicular a essas intervenções não foi uniforme, mas concentrada em componentes específicos. Um padrão já relatado por outros autores que investigaram o perfil lipídico testicular em contextos de obesidade (CRISÓSTOMO et al., 2020; ZHENG et al., 2024).

A elevação do ácido pentadecanoico (C15:0) no grupo obeso sedentário, com redução no grupo obeso exercitado, é um achado particularmente interessante à luz da literatura recente sobre ácidos graxos saturados de cadeia ímpar. Concentrações circulantes elevadas de C15:0 têm sido consistentemente associadas, em estudos observacionais, a menor risco de obesidade, diabetes tipo 2 e doença cardiometabólica (JENKINS; WEST;

KOULMAN, 2015), o que poderia sugerir, à primeira vista, uma interpretação protetora para sua elevação no grupo obeso.

Entretanto, é fundamental destacar que essa literatura se refere predominantemente à concentração circulante/plasmática, habitualmente interpretada como biomarcador de consumo de laticínios ou de metabolismo microbiano intestinal, e não ao acúmulo tecidual local observado no presente estudo. O acúmulo testicular de C15:0 especificamente no grupo obeso pode refletir, alternativamente, alteração da via de α -oxidação peroxissomal de ácidos graxos de cadeia ímpar, cuja atividade também é sensível ao estado metabólico e à composição da dieta em modelos de obesidade induzida por dieta hiperlipídica. A normalização desse acúmulo pelo exercício sugere que o treinamento resistido modula especificamente essa via metabólica no tecido testicular, ainda que o significado funcional desse achado para a espermatogênese e a esteroidogênese permaneça a ser esclarecido em estudos futuros, não havendo até onde foi possível levantar, literatura prévia que tenha investigado especificamente o comportamento de ácidos graxos de cadeia ímpar no testículo em modelos de obesidade e exercício.

Os ácido γ -linolênico (C18:3n-6) e o ácido tridecanoico (C13:0) apresentaram interação estatisticamente significativa entre obesidade e exercício, mas foram detectados em concentrações muito baixas em muitos grupos, próximas ou abaixo do limite de detecção do método, o que exige cautela na interpretação biológica desses resultados. O ácido γ -linolênico é metabolizado sequencialmente a ácido di-homo- γ -linolênico (DGLA) e, posteriormente, a ácido araquidônico, servindo como substrato para a síntese de eicosanoides (prostaglandinas das séries 1 e 2) com papel na regulação de processos inflamatórios. Embora seu papel específico na fisiologia testicular seja pouco explorado na literatura, o ácido α -linolênico (isômero ω -3, distinto do γ -linolênico) já foi associado à promoção da síntese de testosterona e à melhora da função mitocondrial em células de Leydig de aves (estudo em galos reprodutores), por meio do aumento da expressão de StAR, P450scc e 3β -HSD e da redução da razão Bax/Bcl-2. Mecanismo esse, que por analogia bioquímica entre os isômeros n-3 e n-6 dos ácidos graxos poli-insaturados de 18 carbonos, pode sugerir via de investigação futura para o papel específico do C18:3n-6 na esteroidogênese testicular de mamíferos. Já o ácido tridecanoico é um ácido graxo de cadeia ímpar extremamente minoritário, para o qual não foi localizada literatura específica sobre função ou relevância no tecido testicular, de modo que sua alteração neste estudo deve ser registrada como achado exploratório, sem interpretação funcional definitiva no momento. De forma semelhante, não foi localizada literatura específica o papel do ácido

gadoleico (C20:1) na fisiologia testicular, o que também limita a interpretação funcional desse achado, devendo ser tratado como resultado a ser explorado em estudos futuros dedicados especificamente a esse componente lipídico.

Diferentemente dos demais lipídios discutidos, o Ácido α -linolênico (ALA, C18:3n-3) dispõe de literatura relativamente robusta e mecanisticamente detalhada sobre seu papel funcional nas células de Leydig, ainda que majoritariamente proveniente de modelos aviários. Estudos em células de Leydig primárias de galos reprodutores demonstraram que o ALA promove a síntese de testosterona de forma dose-dependente, por meio da ativação da via de sinalização JNK-SF-1, com consequente aumento da expressão de enzimas importantes na esteroidogênese (StAR, P450scc, 3β -HSD e P450c17; ZHAO et al., 2023). Esse efeito esteroidogênico é acompanhado por melhora da função mitocondrial e da biogênese mitocondrial nas células de Leydig, associada a maior capacidade antioxidante e a efeito antiapoptótico caracterizado por aumento da expressão de Bcl-2 e redução de Bax e do fator indutor de apoptose (AIF) (CHANG et al., 2025). Em modelo de galos reprodutores envelhecidos, a suplementação dietética com ALA também elevou a testosterona plasmática por ativação da via SIRT1, com efeitos consistentes de proteção mitocondrial e melhora de parâmetros seminais, incluindo capacidade antioxidante e sobrevivência espermática (LONG et al., 2024).

À luz dessa literatura, a redução da concentração testicular de ALA no grupo obeso sem exercício (O; $0,075 \pm 0,046$ mg/g) em relação aos demais grupos é um achado biologicamente coerente com o quadro de disfunção esteroidogênica e mitocondrial já discutido para outro marcador neste trabalho (BiP), e reforça a hipótese de que a obesidade compromete a disponibilidade testicular de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 com papel protetor sobre a função de Leydig. De forma consistente com essa hipótese, o exercício físico resistido elevou significativamente a concentração de ALA no grupo obeso (OE: $0,133 \pm 0,051$ mg/g) em comparação ao grupo O, sugerindo que parte do efeito benéfico do exercício sobre a função testicular em animais obesos possa ser mediada pela restauração da disponibilidade local desse ácido graxo. Consequentemente pela via de sinalização JNK-SF-1 e pelos mecanismos antiapoptóticos e mitocondriais a ele associados. É importante ressaltar, contudo, que essa é uma extrapolação da via de sinalização baseada em modelo aviário *in vitro*, e que a confirmação de que a mesma via opera em células de Leydig murinas *in vivo* depende de investigações futuras direcionadas como pela avaliação conjunta da expressão de StAR, P450scc e 3β -HSD e dos níveis de testosterona sérica/testicular no presente modelo.

Em conjunto, os achados do perfil lipídico indicam que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica promove alterações específicas e biologicamente relevantes na composição de ácidos graxos testiculares, concentradas em componentes com plausibilidade mecanística já estabelecida na literatura de lipotoxicidade testicular, como o ácido esteárico, e em componentes menos explorados, como os ácidos graxos de cadeia ímpar. O exercício físico resistido foi capaz de atenuar, ao menos parcialmente, essas alterações nos lipídios em que a interação estatística foi mais robusta, reforçando a hipótese de que a resposta do metabolismo lipídico testicular ao exercício é seletiva, e não uniforme, atuando preferencialmente sobre vias específicas de metabolização lipídica ainda a serem melhor caracterizadas.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica compromete o equilíbrio entre o peso testicular e a massa corporal total, evidenciado pela redução do índice gonadosomático no grupo obeso sem exercício (O), e que o exercício físico resistido foi capaz de atenuar parcialmente esse desequilíbrio no grupo obeso com exercício (OE).

Em contrapartida, a arquitetura tubular básica, diâmetro dos túbulos seminíferos e número de espermatogônias, mostrou-se resiliente tanto ao estresse metabólico da obesidade quanto ao exercício de resistência, sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. O mesmo padrão de ausência de diferença estatística foi observado na quantificação de gotas lipídicas por Oil Red O, nesse caso, porém, a elevada variabilidade interindividual e o número reduzido de animais por grupo não permitem concluir pela ausência de efeito biológico da obesidade e do exercício sobre o acúmulo lipídico testicular, apontando antes para uma limitação amostral a ser superada em estudos futuros com maior tamanho amostral. Em conjunto, esses achados sugerem que, dentro do período avaliado, os efeitos da obesidade sobre a espermatogênese atuam predominantemente por vias funcionais e moleculares, e não por remodelamento estrutural do epitélio seminífero.

Nesse sentido, foi verificada a redução da expressão da proteína BiP/GRP78 nas células de Leydig dos animais obesos, interpretada não como ausência de estresse do retículo endoplasmático, mas como exaustão da resposta protetora do *unfolded protein response* (UPR) diante de uma demanda de dobramento proteico sustentada e excessiva.

Essa redução foi atenuada pelo exercício físico resistido, reforçando o papel protetor do treinamento sobre a homeostase do retículo endoplasmático nas células de Leydig.

Em relação ao perfil lipídico testicular, o achado mais expressivo deste estudo, notou-se que a obesidade promoveu alterações seletivas em 5 dos 37 ácidos graxos avaliados, C13:0, C15:0, C18:3n-6, C18:3n-3 (ALA) e C20:1, concentradas em componentes com plausibilidade mecanística já estabelecida na literatura de lipotoxicidade testicular e em ácidos graxos de cadeia ímpar, menos explorados. O exercício físico resistido foi capaz de reverter, ao menos parcialmente, algumas dessas alterações, com destaque para a restauração da concentração testicular de ALA e diminuição da quantidade possivelmente lipotóxica de C15:0, reforçando a hipótese de que a resposta do metabolismo lipídico testicular ao exercício é seletiva, atuando sobre vias específicas de metabolização lipídica.

Em conjunto, esses resultados indicam que a obesidade compromete a homeostase testicular em níveis molecular e bioquímico, na resposta ao estresse do retículo endoplasmático e no perfil de ácidos graxos, antes de se manifestar como dano estrutural evidente, e que o exercício físico resistido representa uma possível estratégia não farmacológica capaz de atenuar, de forma parcial esses efeitos. Investigações futuras, incluindo a avaliação conjunta da expressão de StAR, P450scc e 3 β -HSD e dos níveis de testosterona sérica e testicular, serão importantes para esclarecer os mecanismos que conectam à exaustão da resposta ao estresse do retículo endoplasmático à esteroidogênese nas células de Leydig.

7 FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), por meio de bolsa de mestrado concedida pela PPGBC, Processo nº 88887.954607/2024-00, e de recursos do PROAP (Programa de Apoio à Pós-Graduação) destinados ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA).

8 REFERÊNCIAS

ABEDPOOR, Navid; TAGHIAN, Farzaneh; HAJIBABAIE, Fatemeh. 2024. Exploring the dynamics of exercise intensity on male fertility and reproductive health: advancements and implications for fertility research. **Frontiers in Reproductive Health**, v. 6, p. 1423916.

ADELOWO, Oluwabusayo E. et al. 2024. Unraveling the complexity of the impact of physical exercise on male reproductive functions: a review of both sides of a coin. **Frontiers in Physiology**, v. 15, p. 1492771.

ALCÂNTARA, Letícia Moura; TONIOLLI, Ricardo. 2023. A ESPERMATOGÊNESE. **Ciência Animal**, v.33, n.4, p.101-121.

ALTHOFF, Bruno Barros. 2021. **Herança epigenética da obesidade: promovendo um letramento científico crítico através de uma questão sociocientífica**. Tese de Doutorado - (PPGEFHC) do Programa de Pós-Graduação em Ensino, Filosofia e História das Ciências, (UFBA/UEFS) da Universidade Federal da Bahia e Universidade Estadual de Feira de Santana, Salvador, Bahia. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/handle/ri/33129>>. Acesso em: 12/07/2024.

AMERATUNGA, Devini; GEBEH, Alpha; AMOAKO, Akwasi. 2023. Obesity and male infertility. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 90, p. 102393–102393.

APOVIAN, Caroline M. et al. 2016. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. **Am J Manag Care**, v. 22, n. 7 Suppl, p. s176-85.

APOVIAN, Caroline M. et al. 2015. Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 2, p. 342-362.

BELLADELLI, Federico; BASRAN, Satvir; EISENBERG, Michael L. 2023. Male fertility and physical exercise. **The World Journal of Men's Health**, v. 41, n. 3, p. 482.

BEST, Damian; BHATTACHARYA, Siladitya. 2015. Obesity and fertility. **Hormone molecular biology and clinical investigation**, v. 24, n. 1, p. 5-10.

BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917.

BLÜHER, Matthias. 2019. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 288-298.

BOUTARI, Chrysoula; DEMARSILIS, Antea; MANTZOROS, Christos S. 2023. Obesity and diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 202, p. 110773.

BREMER, Andrew A.; MILLER, Walter L. 2014. Regulation of steroidogenesis. In: **Cellular endocrinology in health and disease**. Academic Press. p. 207-227.

BRONCZEK, Gabriela Alves et al. 2021. Resistance exercise training improves glucose homeostasis by enhancing insulin secretion in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 8574.

BUSEBEE, Bradley et al. 2023. Obesity: a review of pathophysiology and classification. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier. v. 98, n. 12

CANNARELLA, Rossella et al. 2024. Obesity and male fertility disorders. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 97, p. 101273.

CARDOSO, Patrícia Barbosa Salla. 2009. **Método de extração para determinação do perfil lipídico do sêmen ovino através do HPLC**. Dissertação de Mestrado em Reprodução Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, (USP) Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<https://doi.org/10.11606/D.10.2009.tde-21012011-121603>>. Acesso em: 25/07/2024

CATENACCI, Victoria A.; HILL, James O.; WYATT, Holly R. 2009. The obesity epidemic. **Clinics in chest medicine**, v. 30, n. 3, p. 415-444.

CHANG, Xin et al. 2025. α -Linolenic acid promotes testosterone synthesis by improving mitochondrial function in primary rooster Leydig cells. **Theriogenology**, v. 232, p. 9-19.

CHO, H. W. et al. 2003. The antiestrogen ICI 182,780 induces early effects on the adult male mouse reproductive tract and long-term decreased fertility without testicular atrophy. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 1, p. 57.

CHRISTIN-MAITRE, Sophie; YOUNG, Jacques. 2022. Androgens and spermatogenesis. In: **Annales d'endocrinologie**. Elsevier Masson. p. 155-158.

CLEEMAN, James I. 2001. EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 285, n. 19, p. 2486–2497.

COSTA, Larissa Silva Gradil et al. 2023. A PREVALÊNCIA DAS INTERNAÇÕES HOSPITALARES POR OBESIDADE NO BRASIL, ENTRE 2018 E 2022. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 5, n. 4, p. 1395-1406.

CRISÓSTOMO, Luís et al. 2020. Diet during early life defines testicular lipid content and sperm quality in adulthood. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 319, n. 6, p. E1061-E1073.

DE ALMEIDA, Catarina Maria Correia Rodrigues. 2014. **O Obesidade e infertilidade masculina**. Tese de mestrado - Instituto De Ciências Biomédicas Abel Salazar, Mestrado Integrado em Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal. Disponível em: <<https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/76637/2/32742.pdf>>. Acesso em: 11/07/2024.

DE AZEVEDO, M. H. F. D. et al. 2015. Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça-pintada (*Panthera onca*) adulta. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307.

DE MOLA, J. Ricardo Loret. 2009. Obesity and its relationship to infertility in men and women. **Obstetrics and Gynecology Clinics**, v. 36, n. 2, p. 333-346.

FERREIRA, Ana Filipa Rodrigues. 2010. **Obesidade e função reprodutora**. Dissertação de Mestrado - mestrado integrado em Medicina área científica de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal. Disponível em: <<https://hdl.handle.net/10316/48053>>. Acesso em: 15/07/2024.

GASKINS, Audrey Jane et al. 2015. Physical activity and television watching in relation to semen quality in young men. **British journal of sports medicine**, v. 49, n. 4, p. 265-270.

GEBARA, Otavio CE et al. 2002. Efeitos cardiovasculares da testosterona. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 79, p. 644-649.

HAMMOUD, Ahmad O. et al. 2012. Obesity and male infertility: a practical approach. In: **Seminars in reproductive medicine**. Thieme Medical Publishers. p. 486-495.

HATHHOTUWA, Rohana N.; WIJEYARATNE, Chandrika N.; SENARATH, Upul. 2020. Worldwide epidemic of obesity. In: **Obesity and obstetrics**. Elsevier. p. 3-8.

JAMSAI, Duangporn; O'BRYAN, Moira K. 2011. Mouse models in male fertility research. **Asian journal of andrology**, v. 13, n. 1, p. 139.

JENKINS, B. J.; WEST, J.; KOULMAN, A. 2015. A Review of Odd-Chain Fatty Acid Metabolism and the Role of Pentadecanoic Acid (C15:0) and Heptadecanoic Acid (C17:0) in Health and Disease. **Molecules**, v. 20, p. 2425-2444.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. 1992. Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 488-506.

JÓŹKÓW, Paweł; ROSSATO, Marco. 2017. The impact of intense exercise on semen quality. **American journal of men's health**, v. 11, n. 3, p. 654-662.

KHADIR, Abdelkrim et al. 2016. Physical exercise alleviates ER stress in obese humans through reduction in the expression and release of GRP78 chaperone. **Metabolism**, v. 65, n. 9, p. 1409-1420.

KIM, Namhyo et al. 2017. Effect of lipid metabolism on male fertility. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 485, n. 3, p. 686-692.

LI, Yang et al. 2022. Endoplasmic reticulum stress increases exosome biogenesis and packaging relevant to sperm maturation in response to oxidative stress in obese mice. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 20, n. 1, p. 161.

LONG, C. et al. 2024. Alpha-Linolenic Acid Supplementation Improves Testosterone Production in an Aged Breeder Rooster Model: Role of Mitochondrial Modulation and SIRT1 Activation. **Molecular Nutrition & Food Research**, p. e2400522.

LOURENÇO, Emilene C. et al. 2021. Fatty acid profile of lipid-rich food consumed in Paraguay. **Rev. chil. nutr.**

LU, Z.-H. et al. 2003. Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, n. 4, p. 1002-1007.

LUO, Dandan et al. 2020. High fat diet impairs spermatogenesis by regulating glucose and lipid metabolism in Sertoli cells. **Life sciences**, v. 257, p. 118028.

MAIA, Júlia Cordeiro et al. 2024. Estratégias de Prevenção e Tratamento da Obesidade: Perspectivas Clínicas. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 2, p. 269-280.

MALEKI, Behzad Hajizadeh; TARTIBIAN, Bakhtyar. 2018. Resistance exercise modulates male factor infertility through antiinflammatory and antioxidative mechanisms in infertile men: A RCT. **Life sciences**, v. 203, p. 150-160.

MASOOD, Beenish; MOORTHY, Myuri. 2023. Causes of obesity: a review. **Clinical Medicine**, v. 23, n. 4, p. 284-291.

MIYASO, Hidenobu; OGAWA, Yuki; ITOH, Masahiro. 2022. Microenvironment for spermatogenesis and sperm maturation. **Histochemistry and cell biology**, v. 157, n. 3, p. 273-285.

MORAIS, A. C. T. et al. 2009. Parâmetros morfofisiológicos testiculares de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geleia real. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 110-118.

NISHIMURA, Hitoshi; L'HERNAULT, Steven W. 2017. Spermatogenesis. **Current Biology**, v. 27, n. 18, p. R988-R994.

OMS. 2023 **1 em cada 6 pessoas afetadas globalmente pela infertilidade: OMS**. Organização Mundial da Saúde. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility>>. Acesso em: 19/07/2024

OMS. 2024. **Infertilidade**. Organização Mundial da Saúde. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>>. Acesso em: 19/07/2024.

OMS. 2024. **Obesidade e Sobrepeso**. Organização Mundial da Saúde. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 10/07/2024.

OSADCHUK, L. V.; OSADCHUK, A. V. 2023. Individual lifestyle and male fertility. **Human Physiology**, v. 49, n. 2, p. 196-207.

PASQUALI, Renato. 2006. Obesity, fat distribution and infertility. **Maturitas**, v. 54, n. 4, p. 363-371.

PEREIRA, Thiago A. et al. 2025. Managing obesity-related male infertility: insights from weight loss intervention. **Human Reproduction**, v. 40, n. 11, p. 2027-2037.

ROBERTS, Kenneth P.; PRYOR, Jon L. 1997. Anatomy and physiology of the male reproductive system. In: **Male Infertility and Sexual Dysfunction**. New York, NY: Springer New York. p. 1-21.

SALVADOR, Marcela Cazagrande. 2014. **Padronização de técnica histoquímica de mensuração de lipídios da epiderme de cães e mensuração de lipídios da epiderme de cães atópicos antes e após reposição tópica de lipídios e ceramidas**. Dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, campus de Botucatu, São Paulo. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/11449/123883/1/000831481.pdf>>. Acesso em: 22/07/2024.

SAN-CRISTOBAL, Rodrigo et al. 2020. Contribution of macronutrients to obesity: implications for precision nutrition. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 16, n. 6, p. 305-320.

SANTOS JÚNIOR, O. O. et al. 2014. A Simple, Fast and Efficient Method for Transesterification of Fatty Acids in Foods Assisted by Ultrasound Energy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 9, p. 1712-1719.

SEGULA, D. 2014. Complications of obesity in adults: a short review of the literature. **Malawi Medical Journal**, v. 26, n. 1, p. 20-24.

SERVICE, C. Austin et al. 2023. The impact of obesity and metabolic health on male fertility: a systematic review. **Fertility and Sterility**. v. 120, n. 6, p. 1098–1111.

SHARMA, Aditi. 2023. **Investigating physiological effects of weight loss on male fertility**. Tese de Doutorado - Doutorado em Filosofia, Seção de Medicina Investigativa e Endocrinologia Departamento de Metabolismo, Digestão e Reprodução, Faculdade Imperial de London, Londres, Inglaterra. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/566571474.pdf>>. Acesso em: 20/07/2024

SHARMA, Rakesh et al. 2013. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. **Reproductive biology and endocrinology**, v. 11, p. 1-15.

SHARMA, Rakesh; AGARWAL, Ashok. 2011. Spermatogenesis: an overview. **Sperm chromatin: biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction**, p. 19-44.

SILVA, Alan Andrew S. 2021. **Papel da EPPIN (Epididymal protease inhibitor) sobre a maturação pós-testicular de espermatozoides de camundongos: consequências para a função espermática**. Dissertação de mestrado - (IBB) Farmacologia e Biotecnologia, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, São Paulo. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/214792>>. Acesso em: 21/07/2024

SILVA, João V. et al. 2022. Effects of Age and Lifelong Moderate-Intensity Exercise Training on Rats' Testicular Function. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11619.

SUN, Lei et al. 2026. High-fat diet leads to male reproductive dysfunction by disrupting lipid-droplet-mediated organelle crosstalk. **Cell Molecular Biology Letters**, v. 31, n. 1, p. 52.

TOLOUEI AZAR, Javad et al. 2020. The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. **Gene**, v. 754, p. 144850.

VAAMONDE MARTIN, Diana Maria et al. 2014. The impact of physical exercise on male fertility. In: **Male Infertility: A Complete Guide to Lifestyle and Environmental Factors**. New York, NY: Springer New York. p. 47-60.

VANDER BORGHT, Mélodie; WYNS, Christine. 2018. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. **Clinical biochemistry**, v. 62, p. 2-10.

VINGREN, Jakob L. et al. 2010. Testosterone physiology in resistance exercise and training: the up-stream regulatory elements. **Sports medicine**, v. 40, p. 1037-1053.

WANG, Wei et al. 2015. Proteomic analysis of murine testes lipid droplets. **Scientific Reports**, v. 5, p. 12070.

WESTBURY, Susannah et al. 2023. Obesity stigma: causes, consequences, and potential solutions. **Current obesity reports**, v. 12, n. 1, p. 10-23.

WHARTON, Sean et al. 2020. Obesity in adults: a clinical practice guideline. **Cmaj**, v. 192, n. 31, p. E875-E891.

WU, Ling; QU, Jing; MOU, Lisha; LIU, Chunli. 2024. Apigenin improves testosterone synthesis by regulating endoplasmic reticulum stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 177, p. 117075.

YANG, Luda et al. 2021. Circadian regulation of apolipoprotein gene expression affects testosterone production in mouse testis. **Theriogenology**, v. 174, p. 9-19.

YI, Xin et al. 2020. Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 3071658.

ZHAO, Jin et al. 2014. Leptin level and oxidative stress contribute to obesity-induced low testosterone in murine testicular tissue. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 190945.

ZHAO, Z. et al. 2023. α -Linolenic acid-regulated testosterone biosynthesis via activation of the JNK-SF-1 signaling pathway in primary rooster Leydig cells. **Theriogenology**, v. 209, p. 170-177.

ZHENG, Xiaolei; LI, Yuanyuan; SHANG, Xiaokun; LIU, Ruizhi. 2024. Is Lipopolysaccharide-Induced Lipid Metabolism Disorder in Testis of Rats a Consequence of Plasma Lipid Changes? **Journal of Inflammation Research**, v. 17, p. 765-776.

ANEXOS

Anexo A – Certificado de curso de Iniciação em Ciência em Animais de Laboratório da FIOCRUZ.



CERTIFICADO DE CONCLUSÃO

A Fundação Oswaldo Cruz, por meio da Unidade Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, certifica que o(a) aluno(a),

Karen Castillo Quintana

documento: 126.699.779-28, concluiu o curso livre **Iniciação em Ciência em Animais de Laboratório** (1º Oferta)

com duração de 30 hora(s), obtendo desempenho de 100%, no período de 08/04/2024 a 08/05/2024.

Rio de Janeiro / RJ, 08/05/2024.



Documento emitido digitalmente pelo **Campus Virtual da Fiocruz**, código para consulta de autenticidade: **\$1SzDyv**

[https://campusvirtual.fiocruz.br/gestordocurso/institui/cv/onde-30225-e-hmmission-6534/\\$1SzDyv](https://campusvirtual.fiocruz.br/gestordocurso/institui/cv/onde-30225-e-hmmission-6534/$1SzDyv)

Decreto no 9.235/2017 dispõe sobre o exercício das funções de regulação, supervisão e avaliação das instituições de educação superior e dos cursos superiores de graduação e de pós-graduação no sistema federal de ensino.

Reconhece as Escolas de Governo como integrantes do Sistema Federal de ensino para fins de regulação

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9235.htm#art107

DECRETO Nº 9.991, de 28 de agosto de 2019, Institui a Política e as Diretrizes para o Desenvolvimento de Pessoal da administração pública federal direta, autárquica e fundacional, e regulamenta dispositivos da Lei no 8.112, de 11 de dezembro de 1990.

Regulamenta as Escolas de Governo Federais, prevendo a realização de eventos de capacitação, como cursos

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2019/Decreto/D9991.htm

Conteúdo programático do curso/evento:

Unidade 1: A Ciência em Animais de Laboratório:

- 1.1 Evolução e importância da CAL
- 1.2 Ética e legislação em CAL
- 1.3 O princípio do 3 Rs
- 1.4 Os animais de laboratório

Unidade 2: Instalação animal, barreiras sanitárias e biossegurança

- 2.1 Estrutura física e classificação de Biotérios
- 2.2 Instalações e Barreiras Sanitárias
- 2.3 Biossegurança em Biotérios

2.4 Biologia e Manejo de camundongos

2.5 Biologia e Manejo de Cobiças

2.6 Biologia e Manejo de Coelho

Unidade 3: Bem-estar animal e a CAL

3.1 Biologia, etologia e bem-estar animal

3.2 Procedimentos básicos para manipulação das principais espécies

e vias de coleta de sangue e inoculação de fármacos

3. Reconhecimento do estresse, da dor e do sofrimento

Anexo B – Protocolo de aprovação da CEUA

31/07/2023, 14:07

https://sig.unila.edu.br/sipac/protocolo/documento/documento_visualizacao.jsf?idDoc=788877



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO Nº 5 / 2023 / CEUA (10.01.05.19.05)

Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO

Foz Do Iguaçu-PR, 31 de julho de 2023.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - UNILA

Certificamos que a proposta intitulada "Exercício físico em camundongos obesos induzidos por dieta hiperlipídica: efeitos no material genético e metabolismo" - protocolada com o número 23422.013424/2023-73, sob a responsabilidade do docente **Jean Francesco Vettorazzi**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Integração Latinoamericana (UNILA), na reunião do dia 19 de julho de 2023.

Vigência do projeto	Setembro de 2023 a agosto de 2025
Espécie/Linhagem	Camundongo (Mus musculus) / Linhagem C57BL6
Número de animais	40
Peso/Idade	20 a 22 g / 30 dias
Sexo	Machos - Fêmeas
Origem	Biotério Central da UNIOESTE - Campus Cascavel

(Assinado digitalmente em 31/07/2023 11:18)
FLAVIO LUIZ TAVARES
PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR
ILACVN (10.01.06.03.04)
Matrícula: 1655845

Processo Associado: 23422.013424/2023-73

Visualize o documento original em <https://sig.unila.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **5**, ano: **2023**, tipo: **CERTIFICADO**, data de emissão: **31/07/2023** e o código de verificação: **8dd1a201df**

Anexo C – POP Determinação de Lipídios por GC FID

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	
	Análise de Lipídios em material biológico por GC-FID	
	Data de elaboração: 24/09/2025	Revisão: 01

1. Objetivo

Estabelecer diretrizes para a extração e derivatização de lipídios em material biológico, visando sua posterior análise cromatográfica por GC-FID.

2. Local de aplicação

Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e de Alimentos – LEIMAA

3. Descrição

Este procedimento descreve as etapas necessárias para a análise de lipídios em material biológico. A extração é realizada com auxílio do Ultra-Turrax, equipamento que promove a homogeneização eficiente do material biológico com solventes orgânicos, favorecendo a ruptura celular e a liberação dos lipídios. O método permite obter extratos adequados para análise cromatográfica por GC-FID, garantindo precisão, confiabilidade e segurança durante todas as etapas de manipulação.

4. Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

- Equipamentos: Ultra-Turrax; Vórtex; Evaporador de N₂; Banho ultrassônico; Freezer -20 °C; Balança analítica; (GC-FID);
- Materiais: Tubos criogênicos (1,5 mL e 5 mL); Tubos Falcon de 15 mL; Seringas descartáveis com filtros hidrofóbicos; Espátulas finas; Tesouras de uso laboratorial; Ponteiros de pipeta descartáveis (estéreis, se necessário);
- Solventes e reagentes: Metanol (MeOH); Clorofórmio (CHCl₃); Água ultrapura (H₂O); Hidróxido de sódio (NaOH); Cloreto de amônio (NH₄Cl); Ácido sulfúrico (H₂SO₄); Cloreto de sódio (NaCl); Isoctano; Tricosanoato de metila.

5. Procedimento

5.1. Preparação inicial

- Separar tubos criogênicos, identificar com etiqueta (material, data e responsável) e pesar o tubo vazio.
- Pesar o material biológico, transferir para os tubos criogênicos conforme a identificação, picotar com tesoura, empurrar para o fundo com espátula fina e pesar novamente.
- Transportar o material em caixa de isopor com gelo até o laboratório LEAM.

5.2. Extração

- Adicionar 1 mL de metanol e 1 mL de clorofórmio ao tubo criogênico (total de 2 mL).
- Homogeneizar por 2 minutos no Ultra Turrax (velocidade 5), cuidando para que o material não fique preso. Observação: caso necessário, soltar o material preso com pequena ponteira;

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	
	Análise de Lipídios em material biológico por GC-FID	
	Data de elaboração: 24/09/2025	Revisão: 01

- Adicionar 1 mL de clorofórmio (total de 3 mL) e homogeneizar por 1 min 30 s no Ultra Turrax (velocidade 5).
- Adicionar 1 mL de água destilada (total de 4 mL) e homogeneizar novamente por 1 min 30 s no Ultra Turrax (velocidade 5).
- Limpar excesso do ultraturrax com 1 mL de clorofórmio, aproveitando o máximo da amostra, retirando fragmentos com auxílio de ponteira e colocando no mesmo tubo criogênico.
- Filtrar a mistura com seringa e filtro hidrofóbico, transferindo para tubo Falcon de 15 mL. Lavar o tubo criogênico com mais 1 mL de clorofórmio.
- Aguardar a separação de fases e coletar a fase intermediária (lipídios). Descartar as demais e armazenar a fase lipídica em tubo criogênico de 5 mL previamente pesado e identificado.

5.3. Secagem e pesagem

- Secar a amostra sob fluxo de nitrogênio (N₂).
- Pesar novamente o tubo após a secagem para cálculo posterior (peso lipídios).
- Adicionar 50 µL de tricostanoato de metila (padrão interno) e secar novamente com nitrogênio.

5.4. Derivatização

- Adicionar 1,2 mL de NaOH e colocar em banho ultrassônico por 6 minutos em temperatura ambiente.
- Adicionar 1,5 mL do reagente esterificante (cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico) e colocar em banho ultrassônico por 5 minutos em temperatura ambiente.
- Adicionar 1,2 mL de NaCl e agitar em vortex por 30 segundos.
- Adicionar 600 µL de isoctano e agitar em vortex por 30 segundos.

5.5. Armazenamento e análise

- Armazenar a amostra em freezer a -20 °C por 24 horas para separação de fases.
- Retirar a fase orgânica (superior) e submetê-la à análise cromatográfica, ou armazenar em freezer a -20 °C até o momento da análise.

5.6. Preparação de reagentes

Solução de NaOH em metanol 0,5 mol L⁻¹

- Pesar 2,0 g de NaOH (PM= 40 g mol⁻¹)
- Dissolver em metanol e completar o volume para 100 mL em balão volumétrico.

 	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO	
	Análise de Lipídios em material biológico por GC-FID	
	Data de elaboração: 24/09/2025	Revisão: 01

- Armazenar em frasco de vidro âmbar bem vedado, à temperatura ambiente.

Solução saturada de NaCl

- Pesar cerca de 50 g NaCl ($PM = 58,44 \text{ g mol}^{-1}$; $S = 36 \text{ g/100 mL}$ de água a 25°C)
- Dissolver em água ultrapura e completar o volume para 100 mL em balão volumétrico.
- Armazenar em frasco de vidro à temperatura ambiente.

Reagente Esterificante

Solução de Cloreto de Amônio 1 M

- Pesar 5,35 g de NH_4Cl ($PM = 53,5 \text{ g/mol}$).
- Dissolver em água ultrapura e completar para 100 mL em balão volumétrico.

Solução de Metanol 1 M

- Medir 4,0 mL de metanol (densidade = $0,791 \text{ g/mL}$; $PM = 32,0 \text{ g/mol} \approx 32 \text{ g/mol}$).
- Completar com água ultrapura até 100 mL em balão volumétrico.

Solução de Ácido Sulfúrico 1 M

- Adicionar lentamente 5,4 mL de H_2SO_4 concentrado ($\sim 18 \text{ M}$; densidade = $1,84 \text{ g/mL}$) em cerca de 80 mL de água ultrapura, sob agitação constante e em capela de exaustão.
- Completar para 100 mL com água ultrapura.

Mistura Esterificante

- Misturar os três estoques preparados (NH_4Cl 1 M, MeOH 1 M e H_2SO_4 1 M) em proporções iguais (por exemplo, 10 mL de cada).
- Armazenar em frasco de vidro âmbar, sob refrigeração (4°C).

6. Notas importantes

- Limpar ultraturrax entre amostras, retirando a peça homogeneizadora e lavando abundantemente com água destilada e papel para retirada de fragmentos de tecido. Posteriormente encaixar a peça e fazer lavagem com o próprio ultraturrax, colocando em um tubo criogenico limpo com 1 mL de clorofórmio e 1 mL de metanol, agitando por 2 min (velocidade 5) e repetir o processo mais uma vez (com novo tubo criogenico).
- Nota 2.

Declaração de Uso de Ferramentas de Inteligência Artificial Generativa

Em conformidade com as diretrizes de integridade científica e boas práticas na atividade acadêmica, declara-se que ferramentas de Inteligência Artificial Generativa (IAG) foram utilizadas exclusivamente como suporte técnico-visual na elaboração dos elementos gráficos deste trabalho, conforme detalhado a seguir:

- **Figuras:** Ferramentas de IAG foram empregadas para o refinamento estético de esquemas e ilustrações conceituais básicas fornecidas pelo autor, resultando em representações visuais mais elaboradas, modernas e de maior clareza didática. Importante salienta que as Figuras 6, 7 e 8 não passaram por qualquer uso de inteligência artificial por se tratarem de fotomicrografias de cortes histológicos dos túbulos seminíferos, preservando a integridade original dos dados que ilustram e confirmam as observações experimentais.
- **Tabelas:** A formatação estrutural e o design gráfico das tabelas apresentadas foram otimizados por meio de IAG, utilizando como base matrizes de dados previamente estruturadas pelo autor em formato de processador de texto (Microsoft Word).
- **Gráficos:** Os elementos gráficos deste manuscrito foram submetidos a tratamento e refinamento visual por meio de ferramentas de IAG, a partir de gráficos brutos gerados e fornecidos originalmente pelo autor em plataforma de apresentação (Microsoft PowerPoint).

Especificações Técnicas: Foram utilizadas as plataformas **ChatGPT** em sua versão **GPT-5.6 Luna**, com acessos realizados no mês de agosto de 2026.

Reitera-se que o uso das referidas tecnologias limitou-se estritamente ao design, tratamento de imagem e formatação visual. Toda a concepção dos dados, análise estatística, interpretação dos resultados, fundamentação teórica e redação do texto permanecem de autoria e responsabilidade intelectual exclusivas dos autores, não tendo a IAG desempenhado papel na criação do conteúdo científico original.