



Wenna Lúcia
Lima Santos

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é um distúrbio endócrino, caracterizada por complicações reprodutivas e metabólicas. Investigamos o efeito do exercício físico moderado na composição corporal, parâmetros nutricionais e estresse oxidativo em ratas com SOP. A SOP promoveu aumento no ganho de peso, parâmetros murinométricos e nutricionais, IMC, gordura corporal, marcadores pró-oxidante e diminuição da temperatura do tecido adiposo marrom (TAM) e dos marcadores oxidativos. Em contrapartida, o exercício preveniu o ganho de peso corporal, gordura corporal e dos Parâmetros Murinométricos, redução do consumo energético e eficiência alimentar. O exercício causa redução das concentrações dos marcadores pró-oxidante, preveniu a diminuição da temperatura no TAM e atividade aumentada de SOD no TAM.

Dissertação de Mestrado

Repercussões do exercício físico moderado sobre a composição corporal, parâmetros nutricionais e biomarcadores de estresse oxidativo em ratas com síndrome dos ovários policísticos.

Teresina, Piauí. 2023

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**REPERCUSSÕES DO EXERCÍCIO FÍSICO
MODERADO SOBRE A COMPOSIÇÃO
CORPORAL, PARÂMETROS NUTRICIONAIS E
BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO
EM RATAS COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS
POLICÍSTICOS.**

WENNA LÚCIA LIMA SANTOS

Teresina
2023

WENNA LÚCIA LIMA SANTOS

**REPERCUSSÕES DO EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO
SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PARÂMETROS
NUTRICIONAIS E BIOMARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM RATAS COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS
POLICÍSTICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), como requisito para a obtenção do título de mestre em Alimentos e Nutrição.

ORIENTADOR: PROF. DR. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA WENNA LÚCIA LIMA SANTOS E ORIENTADA PELO PROF. DR. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA.

Teresina
2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí Biblioteca
Setorial do CCS
Serviço de Processamento Técnico

S237r Santos, Wenna Lúcia Lima.
Repercussões do exercício físico moderado sobre a composição corporal, parâmetros nutricionais e biomarcadores de estresse oxidativo em ratas com síndrome dos ovários policísticos / Wenna Lúcia Lima Santos. -- Teresina, 2023.
96 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, 2023.
“Orientador: Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva”

1. Parâmetros Nutricionais. 2. SOP. 3. Exercício. 4. Tecido Adiposo Marrom. 5. Nutrição. I. Silva, Moisés Tolentino Bento da. II. Título.

CDD 613.2

Elaborada por Fabiola Nunes Brasilino CRB 3/ 1014

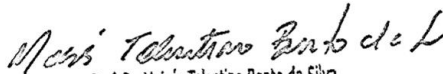
WENNA LÚCIA LIMA SANTOS

**REPERCUSSÕES DO EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO
SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PARÂMETROS
NUTRICIONAIS E BIOMARCADORES DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM RATAS COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS
POLICÍSTICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), como requisito para a obtenção do título de mestre em Alimentos e Nutrição.

DATA DA DEFESA: 23/03/2023

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva
Universidade Federal do Piauí - UFPI
Departamento de Educação Física
SIAPE - 2451259

Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva
Presidente



Prof. Dra. Juliana Soares Severo
1º Examinador



Prof. Dra. Ana Karolina Martins Cavalcante
2º Examinador

RESUMO

Introdução: A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é um distúrbio endócrino, caracterizada por complicações reprodutivas e metabólicas, incluindo alterações no tecido adiposo e aumento do estresse oxidativo. Logo, o exercício físico, pode melhorar os efeitos da SOP, desde repercussões reprodutivas, metabólicas e alterações oxidativas.

Objetivo: Investigamos o efeito do exercício físico moderado na composição corporal, parâmetros nutricionais e estresse oxidativo em ratas com SOP. **Métodos:** Fêmeas Wistar, (190-220g), divididas em controle (CO), SOP e SOP+Exercício. A SOP foi induzida por letrozol (1mg/kg via p.o), por 21 dias consecutivos. O exercício foi treino de natação (com 5% do peso corporal), 1h/dia/21 dias. Avaliamos o peso corporal, parâmetros nutricionais e murinométricos, composição corporal, termografia e biomarcadores de estresse oxidativo no tecido adiposo marrom (TAM) e tecido branco (TAB). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFPI nº 599/19).

Resultados: a SOP promoveu aumento ($p < 0,05$) no ganho de peso corporal em relação ao CO ($28,38 \pm 4,66$ vs. $15,36 \pm 2,04$ g) e o exercício preveniu ($p < 0,05$) o ganho de peso em relação à SOP ($11,85 \pm 2,04$ vs. $28,38 \pm 4,66$ g). Observamos redução ($p < 0,05$) no Índice de Lee ($0,264 \pm 0,002$ vs. $0,276 \pm 0,003$ g/cm) e no Índice de Massa Corporal ($0,422 \pm 0,008$ vs. $0,470 \pm 0,015$ g/cm²) em ratas SOP+Ex em comparação com o grupo SOP. Em comparação com o grupo CO, SOP aumentou ($p < 0,05$) Taxa Específica de Ganho de Peso ($66,39 \pm 8,17$ vs. $165,70 \pm 28,44$ g/kg), Ingestão Energética ($57,32 \pm 2,32$ vs. $64,08 \pm 3,42$ Kcal/dia) e Eficiência Alimentar ($23,94 \pm 2,59$ vs. $56,13 \pm 4,48\%$). Houve diferença significativa na composição de massa magra no grupo SOP comparado ao CO ($164,50 \pm 4,20$ vs. $137,80 \pm 3,10$ g). E prevenção no ganho de gordura corporal no grupo SOP+EX em relação ao SOP ($57,8 \pm 2,5$ vs. $70,2 \pm 2,9$ g). As ratas com SOP diminuíram ($p < 0,05$) a temperatura no TAM em relação ao controle ($37,14 \pm 0,08$ vs. $36,69 \pm 0,10$ °C). A SOP+Ex preveniu ($p < 0,05$) esta diminuição em comparação com as ratas SOP ($36,69 \pm 0,10$ vs. $37,08 \pm 0,09$ °C). Em relação aos resultados do estresse oxidativo, o TAB nos animais SOP diminuiu ($p < 0,05$) SOD ($1,75 \pm 0,05$ vs. $2,41 \pm 0,20$ U SOD/ μ g tecido) e GSH ($16,28 \pm 4,32$ vs. $51,17 \pm 9,21$ μ g GSH/g tecido) em comparação ao grupo CO. Em relação ao TAM, observamos um aumento significativo ($p < 0,05$) nos níveis de MPO e MDA na SOP em

comparação com o grupo CO. Por outro lado, observamos uma diminuição ($p < 0,05$) na SOP+Ex em relação à SOP ($0,66 \pm 0,12$ vs. $1,26 \pm 0,15$ U/mg). Redução de SOP+Ex ($p < 0,05$) MDA em tecido marrom ($503,3 \pm 64,97$ vs. $1,751 \pm 75,97$ nmol/g) e em tecido branco ($316,7 \pm 50,49$ vs. $834,6 \pm 64,80$ nmol/g) em comparação com o grupo SOP. **Conclusão:** A SOP induz mudanças na composição corporal, parâmetros nutricionais e em biomarcador de estresse oxidativo, e o exercício físico moderado foi capaz de melhorar essas alterações.

Palavras-Chaves: Parâmetros Nutricionais; SOP; Exercício; Tecido Adiposo Marrom; Nutrição.

ABSTRACT

Introduction: Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is an endocrine disorder, characterized by reproductive and metabolic complications, including changes in adipose tissue and increased oxidative stress. Therefore, physical exercise can improve the effects of PCOS, from reproductive, metabolic and oxidative changes. **Objective:** We investigated the effect of moderate physical exercise on body composition, nutritional parameters and oxidative stress in rats with PCOS. **Methods:** Wistar females, (190-220g), divided into control (CO), SOP and SOP+Exercise. PCOS was induced by letrozole (1mg/kg p.o) for 21 consecutive days. The exercise was swimming training (with 5% of body weight), 1h/day/21 days. We evaluated body weight, nutritional and murinometric parameters, body composition, thermography and oxidative stress biomarkers in brown adipose tissue (BAT) and white tissue (WAT). The study was approved by the Ethics in Animal Use Committee (CEUA-UFPI n° 599/19). **Results:** PCOS promoted an increase ($p < 0.05$) in body weight gain in relation to CO (28.38 ± 4.66 vs. 15.36 ± 2.04 g) and exercise prevented ($p < 0.05$) weight gain in relation to PCOS (11.85 ± 2.04 vs. 28.38 ± 4.66 g). We observed a reduction ($p < 0.05$) in Lee Index (0.264 ± 0.002 vs. 0.276 ± 0.003 g/cm) and Body Mass Index (0.422 ± 0.008 vs. 0.470 ± 0.015 g/cm²) in PCOS+Ex rats compared to the PCOS group. Compared to the CO group, PCOS increased ($p < 0.05$) Specific Weight Gain Rate (66.39 ± 8.17 vs. 165.70 ± 28.44 g/kg), Energy Intake (57.32 ± 2.32 vs. 64.08 ± 3.42 Kcal/day) and Food Efficiency (23.94 ± 2.59 vs. $56.13 \pm 4.48\%$). There was a significant difference in lean mass composition in the PCOS group compared to the CO group (164.50 ± 4.20 vs 137.80 ± 3.10 g). And prevention of body fat gain in the PCOS+EX group in relation to PCOS (57.8 ± 2.5 vs 70.2 ± 2.9 g). Rats with PCOS decreased ($p < 0.05$) the temperature in the TAM compared to the control (37.14 ± 0.08 vs. 36.69 ± 0.10 °C). PCOS+Ex prevented ($p < 0.05$) this decrease compared to PCOS rats (36.69 ± 0.10 vs. 37.08 ± 0.09 °C). Regarding the results of oxidative stress, WAT in PCOS animals decreased ($p < 0.05$) SOD (1.75 ± 0.05 vs. 2.41 ± 0.20 U SOD/ μ g tissue) and GSH (16.28 ± 4.32 vs. 51.17 ± 9.21 μ g GSH/g tissue) compared to the OC group. Regarding TAM, we observed a significant increase ($p < 0.05$) in MPO and MDA levels in PCOS compared to the OC group. On the other hand, we observed a decrease ($p < 0.05$) in PCOS+Ex in relation to

PCOS (0.66 ± 0.12 vs. 1.26 ± 0.15 U/mg). Reduction of SOP+Ex ($p < 0.05$) MDA in brown tissue (503.3 ± 64.97 vs. 1.751 ± 75.97 nmol/g) and in white tissue (316.7 ± 50.49 vs. 834.6 ± 64.80 nmol/g) compared to the PCOS group. **Conclusion:** PCOS induces changes in body composition, nutritional parameters and oxidative stress biomarker, and moderate physical exercise was able to improve these changes.

Keywords: Nutritional Parameters; PCOS; Exercise; BAT; Nutrition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01. Disfunção hormonais envolvidas na SOP.....	20
Figura 02. Fisiopatologia da SOP.....	21
Figura 03. Funcionamento da UCP-1, presente no tecido adiposo marrom.	24
Figura 04. Controle neural da saciedade.....	26
Figura 05. Desenho Experimental do Estudo.....	29
Figura 06. Verificação do comprimento naso-anal (CNA)	32
Figura 07. Bioimpedância por espectroscopia.....	33
Figura 08. Padrão do Ciclo Estral.....	37
Figura 09. Curva de peso corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	38
Figura 10. Delta do ganho de peso das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	39
Figura 11. Curva de consumo alimentar das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	39
Figura 12. Taxa Específica do Ganho de Peso 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	41
Figura 13. Ingestão energética no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	42
Figura 14. Eficiência alimentar no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	43
Figura 15. Ingestão alimentar voluntária no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	44
Figura 16. Índice de Massa Corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	45
Figura 17. Índice de Lee das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	46
Figura 18. Água corporal total das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.....	47
Figura 19. Volume de Líquido Extracelular e Volume de Líquido Intracelular das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.....	48

Figura 20. Percentual de massa magra das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	49
Figura 21. Percentual de gordura corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	50
Figura 22. Perfil de temperatura corporal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.....	51
Figura 23. Teste de Tolerância à Glicose das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.....	52
Figura 24. Concentrações de Superóxido dismutase (SOD-U) e Glutaciona Peroxidase (NPSH/mg) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício	54
Figura 25. Concentrações de Nitrito (Nox- μ M), Malondialdeído (MDA-nmol/g), Mieloperoxidase (MPO-U/mg) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Critérios Diagnósticos da SOP.....	19
Tabela 02. Composição centesimal da ração padrão utilizada.....	31
Tabela 03. Peso dos tecidos e órgãos dos grupos Controle, SOP e SOP+Exercício.....	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SOP	Síndrome do Ovário Policístico
AR	Receptor de Andrógeno
GTPases	Guanina Tri-Fosfato
PLIN3	Gene da Perilipina 3
UCP1	proteína de desacoplamento 1
MDA	Malondialdeído
SOD	Superóxido Dismutase
Nox	Nitrato/Nitrito
MPO	Mieloperoxidase
GSH	glutationa
NIH	Instituto Nacional da Saúde (Estados Unidos)
AE-PCOS	– Sociedade do Excesso de Andrógenos e Ovários Policísticos
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
LH	Hormônio Luteinizante
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
E2	Estradiol
INSR	Receptores de insulina
DHT	Di-hidrotestosterona
RI	Resistência à Insulina
ATP	Adenosina Trifosfato
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
NADPH	Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
AgRP	Neuropeptídeo Agouti
POMC	Pró-opiomelanocortina
GLP-1	Peptídeo 1 Tipo Glucagon
GIP	Polipeptídeo Inibitório Gástrico
SHBG	Globulina Ligadora de Hormônios Sexuais
IE	Ingestão Energética
EA	Eficiência Alimentar
IVA	Ingestão Alimentar Voluntária
TAM	Tecido Adiposo Marrom

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1 Síndrome do Ovário Policístico.....	18
3.1.1 Síndrome do Ovário Policístico Experimental.....	21
3.2. SOP e disfunção do tecido adiposo.....	22
3.3 SOP <i>versus</i> exercício físico.....	26
4. METODOLOGIA.....	28
4.1 Animais e Princípios Éticos.....	28
4.2 Protocolo de citologia vaginal.....	29
4.3 Protocolo de Indução da Síndrome do Ovário Policístico.....	30
4.4 Protocolo de Exercício Físico.....	30
4.5 Protocolo de Consumo Alimentar.....	31
4.6 Parâmetros Murinométricos.....	31
4.7 Termografia Infravermelha.....	32
4.8 Avaliação da Composição Corporal por Bioimpedância.....	33
4.9 Teste de Tolerância à Glicose (TTG).....	34
4.10 Pesagem dos Animais, Órgãos e tecidos.....	34
4.11 Avaliação do Estresse Oxidativo.....	34
4.11.1 Determinação do nível de Malondialdeído (MDA)	34
4.11.2 Determinação da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)..	35
4.11.3 Determinação dos níveis de Nitrato/Nitrito (Nox).....	35
4.11.4 Determinação Da Atividade da Mieloperoxidase (MPO).....	36
4.11.5 Determinação das Concentrações de Glutationa (GSH).....	36
4.12 Análise Estatística.....	36
5 RESULTADOS.....	37
5.1 Fase do Ciclo Estral.....	37
5.2 Curva de Peso Corporal e Delta do Ganho de Peso.....	37
5.3 Consumo Alimentar.....	39
5.4 Taxa Específica do Ganho de Peso 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia de tratamento e/ou treinamento.....	40
5.5 Parâmetros Nutricionais no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia de tratamento e/ou treinamento.....	41

5.6 Índice de Massa Corporal após 21 dias tratamento e/ou treinamento.....	45
5.7 Índice de Lee das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.....	45
5.8 Composição Corporal mediante Bioimpedância por espectroscopia (BIS)	46
5.9 Registros da Temperatura Corporal após 21 dias de treinamento e/ou acompanhamento.....	50
5.10 Curva glicêmica das ratas Controle, SOP, SOP+EX.....	52
5.11 Registros do Peso dos Tecidos e órgãos dos animais Controle, SOP e SOP+Exercício.....	52
5.12 Marcadores Pró-Oxidantes e Antioxidantes dos animais Controle, SOP e SOP+Exercício.....	53
6 DISCUSSÃO.....	57
7 CONCLUSÃO.....	65
REFERENCIAS.....	66
ANEXO.....	84

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome do Ovário Policístico (SOP), é um dos distúrbios de característica endócrino mais comum em mulheres em idade reprodutiva, acometendo cerca de 8 a 13% da população.¹

Tal síndrome, resulta de um defeito esteroidogênese, caracterizado por hiperandrogenismo, disfunção ovulatória, presença de ovários policísticos, que frequentemente apresenta complicações reprodutivas e metabólicas, incluindo adiposidade, resistência à insulina e dislipidemia.²

Embora a etiologia da SOP seja considerada uma doença multigênica, no qual fatores genéticos predisponentes interagem com fatores ambientais, ainda assim, existem vários tipos diferentes de fenótipos para o desenvolvimento de SOP.³

Acredita-se que o excesso de andrógenos seja um fator-chave no desenvolvimento desse distúrbio, onde estudos em modelos animais revelam que a perda da sinalização do receptor de andrógeno (AR) poderia melhor ou evitar os fenótipos da SOP, sinalização essa relacionada aos polimorfismos de repetição Citosina/Adenina/Guanina no gene AR favorecendo assim, o hiperandrogenismo em mulheres com SOP.⁴

O desenvolvimento de modelos experimentais de SOP têm sido amplamente estudados. Nos últimos anos, os modelos mais usados envolvem a exposição de ratas à inibidores da aromatase, como o letrozol, reproduzindo muitos fenótipos da SOP, como aumento de testosterona e hormônio luteinizante, ovário policísticos, aumento de peso e ciclos irregulares, guardando por si, uma certa semelhança clínica com o que acontece em mulheres com SOP.⁵

Nessa perspectiva, evidências científicas demonstram que o objetivo do tratamento na SOP não se restringe à abordagem das repercussões reprodutivas, mas também, devem ser direcionados para a prevenção do ganho de peso, entendimento do estresse oxidativo, manejo da obesidade abdominal, e eventuais alterações nos parâmetros nutricionais.^{6,7,8}

Logo, grande destaque tem sido dado às medidas não-farmacológicas, especialmente prática de exercício físico regular, uma vez que o mesmo tem a capacidade de promover melhorias em alguns sintomas ocasionados pela SOP.⁹

Segundo Oliveira et al.¹⁰ é sabido que o músculo esquelético é reconhecido como órgão com função endócrina, que quando estimulado, é capaz de produzir diversas miocinas. No estudo de Covington et al.¹¹ e Moro et al.¹² foi verificado, que o exercício aeróbico crônico foi capaz de regular a via GTPases, PLN3, catecolamina, além de estimular a liberação do peptídeo natriurético atrial promovendo uma melhoria da atividade da lipólise, a qual encontra-se reduzida em portadoras da SOP.

Ainda sobre os efeitos do exercício no tecido adiposo, sabe-se que o tecido adiposo marrom possui importante função termogênica.¹³ Entretanto, esse fator termogênico do tecido adiposo marrom é reduzido em portadoras da SOP.¹⁴

De acordo com Dantas et al.¹⁵ uma sessão aguda de exercício aeróbico foi capaz de promover um aumento da atividade da UCP1 (proteína de desacoplamento 1), proteína essa presente do tecido adiposo marrom responsável por mediar o processo de termogênese no requerido tecido.

No que diz respeito ao estresse oxidativo, é reconhecido por desempenhar um papel central na fisiopatologia de muitas doenças, incluindo a SOP.¹⁷ No estudo de Wu et al.¹⁸ os autores observaram que o exercício físico crônico de 12 semanas promoveu uma melhora dos fatores que envolvem o estresse oxidativo como MDA e SOD levando assim, a uma melhoria da capacidade antioxidante total.

Diante do exposto, o exercício físico aeróbico de intensidade moderada, pode ser uma ferramenta importante na prevenção e/ou tratamento dos sintomas promovidos pela SOP. Assim, esse estudo se justifica na tentativa de elucidar como o exercício pode interferir nos parâmetros nutricionais e no balanço antioxidante em ratas portadoras Síndrome dos Ovários Policísticos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar as repercussões do exercício físico moderado sobre a composição corporal, parâmetros nutricionais e biomarcadores de estresse oxidativo em ratas com síndrome dos ovários policísticos.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar os parâmetros murinométricos e nutricionais de ratas com síndrome dos ovários policísticos submetidos ou não a exercício físico;
- ✓ Quantificar eventuais mudanças de temperatura via termografia, em ratas com síndrome dos ovários policísticos ou submetidas a exercício físico.
- ✓ Investigar as alterações composição corporal de ratas com síndrome dos ovários policísticos submetidas ou não a exercício físico;
- ✓ Quantificar os marcadores de estresse oxidativo como MPO, SOD, MDA, Nox e GSH em tecidos adiposo, como epididimal e marrom em ratas submetidas ou não ao exercício físico com Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Síndrome do Ovário Policístico

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é considerada uma patologia complexa devidos seus sintomas heterogênicos, caracterizada principalmente pela anovulação crônica e aumento dos hormônios androgênicos. Apresenta prevalência de 8% a 13% em mulheres em idade reprodutiva.¹

Para diagnóstico da SOP é necessário excluir outras doenças que apresentam manifestações clínicas semelhantes à SOP, não podendo a mesma, ser diagnosticada a partir de um único sintoma. Nesse sentido, em 2003 o consenso de Rotterdam¹⁸ foi revisado quanto aos critérios de diagnóstico, bem como os riscos relacionados ao desenvolvimento da SOP. No consenso anterior, as manifestações clínicas estabelecidas para diagnóstico eram anovulação crônica e sinais clínicos de hiperandrogenia. Com a atualização, acrescentou-se a presença dos ovários policísticos e exclusão de outras etiologias (hiperplasias adrenais congênitas, tumores secretores de andrógenos, síndrome de Cushing) (tabela 01).¹⁸

Baseado nos critérios de Rotterdam foram criados perfis de fenótipos A, B, C e D. A SOP clássica em que são inclusas as mulheres que apresentam amenorreia ou oligomenorreia, hiperandrogenismo com ou sem a morfologia policísticas dos ovários é considerada fenótipo A e B; Por outro lado, a SOP ovulatória que apresenta hiperandrogenismo (clínico e/ou bioquímico), com presença da morfologia policística nos ovários e ciclos menstruais regulares, é considerada o fenótipo tipo C; e por fim, SOP normoandrogênica que tem a presença da oligo/amenorreia, ausência de hiperandrogenismo clínico e níveis androgênicos normais, bem como a presença dos ovários policísticos, conferindo o fenótipo D.¹⁸

Tabela 01 - Critérios Diagnósticos da SOP

Protocolo	Critérios	Condições
NIH (1990)	Hiperandrogenismo (clínico ou laboratorial); Oligo-amenorreia; Fenótipo policístico dos ovários	Hiperandrogenismo e oligo-amenorreia obrigatórios.
Rotterdam (2004)	Hiperandrogenismo (clínico ou laboratorial); Oligo-amenorreia; Fenótipo policístico dos ovários	Presença de 2 ou 3 critérios, sem obrigatoriedade.
AE-PCOS Society (2009)	Hiperandrogenismo (clínico ou laboratorial); Oligo-amenorreia; Fenótipo policístico dos ovários	Presença de hiperandrogenismo com mais outro fator, sem obrigatoriedade.

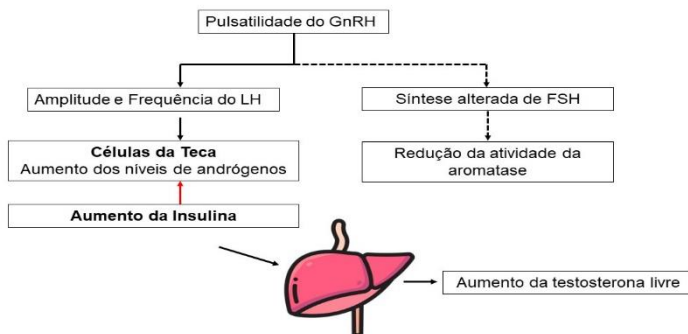
Legenda: AE-PCOS - Sociedade do Excesso de Andrógenos e Ovários Policísticos; NIH - Instituto Nacional da Saúde (Estados Unidos) (THE ROTTERDAM ESHRE/ASRM-SPONSORED PCOS CONSENSUS WORKSHOP GROUP, 2004).

A fisiopatologia da SOP não está totalmente elucidada, mas sabe-se que suas manifestações estão relacionadas a fatores epigenéticos, genéticos e ambientais, trazendo como consequência a desregulação hormonal.

A SOP é caracterizada pelo aumento da liberação pulsátil do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH) que aumenta de forma seletiva a secreção de Hormônio Luteinizante (LH) enquanto extingue relativamente a secreção de Hormônio Folículo Estimulante (FSH). O LH estimula a produção de células T da teca ovariana. As células da teca são células presentes no folículo em desenvolvimento, apresentam função de suporte na estrutura e vascular na ovulação, garantindo fertilidade.¹⁹

Na SOP, as células T não são completamente aromatizadas em estradiol (E2) devido à menor atividade da aromatase das células da granulosa (que são responsáveis pelo crescimento dos folículos primários) que são estimuladas pelo FSH. Por isso, o aumento de andrógenos basais, bem como em resposta ao LH, produzindo os sintomas masculinizantes da SOP, como o hirsutismo.¹ Essas alterações estão apresentadas na figura 01.

Figura 01 - Disfunções hormonais envolvidas na SOP



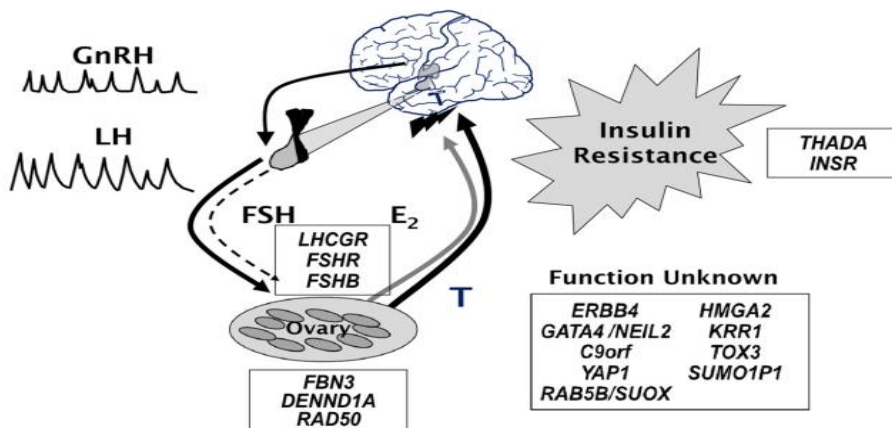
Fonte: Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal. Elaborada pela autora, 2022.

Além disso, as células T realimenta o eixo hipotálamo-hipófise para diminuir a sensibilidade aos efeitos de E2 e progesterona (não apresentado na figura) para diminuir o gerador de pulsos de GnRH. Essas anormalidades são autoperpetuantes, o chamado ciclo vicioso da SOP.

Outro ponto que deve ser levado em consideração durante o desenvolvimento da SOP, são as alterações metabólicas. Nesse sentido, a resistência à insulina é comumente associada à SOP, podendo ser um fator de amplificação as anormalidades reprodutivas. Alguns estudos apontam que meninas afetadas pela SOP apresentam alterações nos genes receptores da insulina (INSR) em quantidade ou na redução da funcionalidade dos receptores.²⁰

Neste contexto, vários estudos têm associando fatores genéticos a etiologia da doença, onde já foram identificados como fatores de risco, cerca de 26 genes para a SOP, sendo estes, responsáveis por funções reprodutivas, como a secreção das gonadotrofinas.²¹ Outro estudo informa que 17 genes foram mapeados de forma reproduzível para SOP, genes esses associados a fibrilina-3 (FBN3).²² A função gênica durante o desenvolvimento da patogênese da SOP permanece desconhecida. A associação de fatores endócrinos e genéticos estão representados na figura 02.¹

Figura 02 - Fisiopatologia da SOP.



Fonte: Imagem extraída de SPRITZER et al., (2019).

3.1.1 Síndrome do Ovário Policístico Experimental

A SOP não apresenta uma fisiopatologia única e definida. Assim, o desenvolvimento e os estudos a partir de modelos experimentais têm contribuído para a compreensão da etiopatogenia da SOP, seus fenótipos bem como eventuais tratamentos. Ainda não há consenso sobre um modelo animal experimental ideal para a SOP, que reproduza de maneira fiel, todas as características da SOP em animais e que possa ser feita uma translação.²³

Dessa forma, existe uma grande variação na indução da SOP, alguns modelos hormonais experimentais fazem a exposição à androgênios, como a testosterona, sulfato de dehidroepiandrosterona, a dihidrotestosterona, promovendo anovulação, aumento da gordura corporal e resistência à insulina^{24,25} bem como a exposição a estrógenos causando alteração no ciclo estral, anovulação e ovários policísticos^{26, 27}, antiprogestinas com alterações na ovulação, bem como o aumento dos níveis de LH^{28,29} e inibidores da aromatase^{24,30,31}.

Além dos modelos hormonais existem modelos fisiológicos para indução da SOP em roedores, como alteração na exposição à luz (ciclo claro-escuro)³² e modelos com alterações genéticas para SOP,

como camundongos knockout para leptina ou para os receptores da leptina³³, super expressão transgênicos de hormônio luteinizante também utilizado para mimetizar os sintomas da SOP.³⁴

No entanto, nos últimos anos, os modelos mais usados envolvem a exposição de ratas à inibidores da aromatase e androgênios.³⁵ Um estudo apresentou os efeitos do letrozol em ratas, o letrozol é um inibidor de aromatase que age bloqueando a conversão de andrógenos em estrógenos, portanto induz o aumento de níveis de androgênios e mimetiza as disfunções metabólicas e reprodutivas presentes na SOP.³⁶

Alguns estudos apontam que a administração de letrozol por 21 dias promove alterações dos ciclos estrais, ausência de ovulação e fenótipo policísticos nos ovários, semelhante à SOP humana.^{24, 30, 31} Em modelos de ratas com SOP experimental induzida por letrozol quando comparados ao modelo de SOP induzida por DHT, foi observado que o letrozol apresenta mais características reprodutivas da SOP, enquanto os modelos induzidos por DHT possuem fenótipo metabólico mais exacerbado, com resistência.²⁴ Outro estudo apresentou como resultado que a exposição pré-puberal ao letrozol por dose diária (200 µg/dia) induziu além das características reprodutivas, as características metabólicas da síndrome, incluindo a resistência à ação da insulina.³¹

Ainda nesse contexto, a exposição contínua ao letrozol gerou o aumento de LH e FSH, devido ao bloqueio da aromatase, ocorre o acúmulo da secreção dos androgênios endógenos. Além das alterações hormonais, foram observadas disfunções metabólicas da SOP humana, como o aumento do peso corporal, alterações nos níveis de glicemia, colesterol e triglicérides.³⁷

3.2. SOP e disfunção do tecido adiposo

A incidência de obesidade é maior em mulheres com SOP quando comparadas às mulheres sem SOP. Sabe-se que a obesidade e a SOP estão associadas ao aumento do risco de doença cardiometabólica, incluindo hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina (RI) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2).^{38,23}

Na obesidade, ocorre a hipertrofia e a hiperplasia (em caso de obesidade prolongada) dos adipócitos, tendo como resultado o aumento da lipólise basal por essas células, liberação de substâncias pró-

inflamatórias e necrose celular no tecido adiposo, esses fatores também estão associados com o desenvolvimento de resistência à insulina.³⁹

Ainda nesse contexto, o tecido adiposo é constituído por células chamadas de adipócitos e pré-adipócitos. No entanto, os adipócitos só armazenam lipídeos e serem responsivos à insulina quando estão no estágio maduro.⁴⁰ Vale ressaltar que o processo pelo qual os pré-adipócitos se diferenciam em adipócitos maduros é denominado adipogênese. Os adipócitos podem ser brancos, beges ou marrons.

Os adipócitos brancos apresentam função de estocar e liberar energia em forma de lipídeos, geralmente apresenta forma esférica, estocando grandes quantidades de lipídeos em poucos espaços, sendo unilocular de lipídeo com poucas e mitocôndrias e muitos triglicerídeos. Estes adipócitos são capazes de liberar hormônios.⁴¹

Além dos brancos, existem os adipócitos marrons, estes com função de termogênese, devido sua capacidade de dissipar a energia contida em forma de calor. Esta característica do adipócito marrom só é possível devido à presença da termogenina (UCP-1, Uncoupling Protein 1), apresentado na figura 03. A UCP-1 é uma proteína mitocondrial que interrompe o fluxo de elétrons da cadeia respiratória e favorece a produção de calor ao invés de adenosina trifosfato (ATP). Diferente dos adipócitos brancos, os marrons apresentam rica vascularização, múltiplos e pequenos depósitos de gordura e quantidade significativa de mitocôndrias.⁴²

Figura 03 - Funcionamento da UCP-1, presente no tecido adiposo marrom.

Fonte:

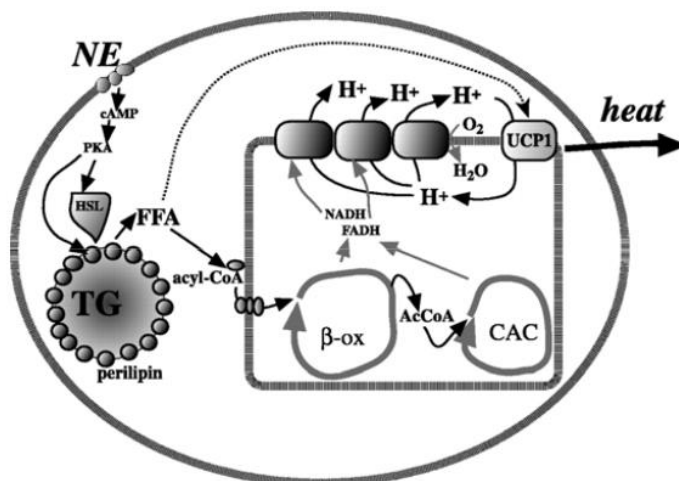


Imagem extraída de COHEN; SPIEGELMAN (2015).⁴²

O acúmulo de gordura e estresse oxidativo apresentam correlação negativa em pesquisas com humanos, com maior produção de EROS, da expressão de NADPH oxidase (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase) e queda da expressão de enzimas antioxidantes.⁴³ Alguns estudos apresentam a associação do estresse oxidativo em algumas doenças, como síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e SOP.^{44,45}

A associação do estresse oxidativo com a inflamação sistêmica apresentam influência nos distúrbios metabólicos e alterações cardiovasculares em mulheres com SOP. Mulheres com SOP apresentam o aumento de óxido nítrico (NO) e malondialdeído (MDA), que são considerados marcadores de estresse oxidativo, quando comparados ao controle.⁴⁶

Ainda nesse sentido, foi encontrada associação entre a quantidade de gordura visceral e marcadores oxidativos, indicando que o tecido adiposo visceral pode regular as alterações oxidativas em pesquisas experimentais induzindo a obesidade com sobrecarga de frutose.⁴⁷ Em relação à SOP é observado que a resistência à ação da insulina está envolvida na patogênese da doença, sabe-se que ao apresentar RI aumentam os níveis de glicose circulante que de forma

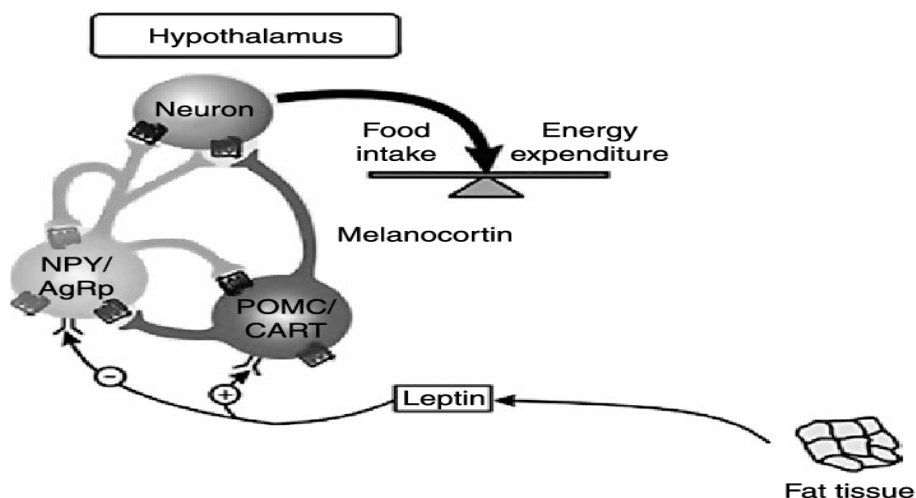
crônica pode promover o aumento das espécies reativas ao oxigênio (EROs), um marcador de estresse oxidativo.⁴⁸

Estudos apontam a existência de uma correlação entre resistência à insulina e estresse oxidativo no tecido adiposo de mulheres com SOP⁴⁹, em relação ao sistema antioxidante, alguns estudos evidenciam a redução do sistema antioxidante, avaliados pelo óxido nítrico, glutathiona (GSH) e Capacidade Antioxidante Total.^{50,51,52}

Outro fator importante na resistência à ação da insulina é a relação com o hormônio leptina, esta conhecida como “hormônio da saciedade”, sendo secretada de forma pulsátil pelo tecido adiposo branco e pela placenta. A leptina e insulina fornecem importantes informações aferentes ao cérebro. Os neurônios encontrados no núcleo arqueado do hipotálamo também expressam receptores de insulina, sendo então alvos de ação deste hormônio.⁵³

A leptina e insulina têm suas ações nos neurônios produtores de neuropeptídeos e neurotransmissores que aumentam (orexígenos) ou diminuem (anorexígenos) a ingestão alimentar. Os neuropeptídeos orexígenos são o neuropeptídeo Y (NPY) e neuropeptídeo agouti (AgRP), enquanto os anorexígenos são precursores da POMC (pró-opiomelanocortina) e o transcrito relacionado à cocaína e à anfetamina (CART) (figura 04). Vale ressaltar que os neuropeptídeos orexígenos não estimulam somente a ingestão de comida, mas também diminuem o gasto energético. Os neuropeptídeos anorexígenos agem de forma contrária, diminuindo o consumo alimentar e aumentando o gasto energético.⁵⁴

Figura 04 - Controle neural da saciedade.



Fonte: Imagem extraída de CRISPIM et al. (2007).

3.3 SOP versus exercício físico

Atualmente, o manejo da patologia recomendado é a associação de medicamento, dieta e exercício físico, afim de reduzir sintomas e algumas comorbidades oriundas da SOP, como doenças cardiovasculares. Os exercícios aeróbicos ou resistidos se mostram eficazes para mulheres com SOP promovendo alterações como a bradicardia de repouso, redução da pressão arterial, melhora do perfil glicêmico, redução da resistência à ação da insulina que é um dos fatores centrais da SOP.³⁸

Ainda no contexto da melhora da RI com o treinamento físico, vale ressaltar a importância das incretinas, estas que são produzidas pelo intestino e fazem a regulação da glicose, potencializando a função das células beta pancreáticas, gerando melhor sensibilidade à ação da insulina. Os dois principais hormônios incretina são o polipeptídeo inibitório gástrico (GIP), e o peptídeo 1 tipo glucagon (GLP-1). As incretinas estão associadas à regulação neuroendócrina da saciedade, o GLP-1 é um hormônio anorexígeno secretado pelas células intestinais podendo influenciar no esvaziamento gástrico, secreção de insulina e a sinalização da saciedade.⁵⁵ Em uma meta-análise foi exposto efeito médio do exercício agudo moderado a intenso no aumento dos níveis

de GLP-1 em indivíduos com peso normal⁵⁶, ainda não está elucidado os efeitos em mulheres com SOP.

O exercício dentro outros benefícios, tem a capacidade de modular o balanço relacionado ao estresse oxidativo. Alguns estudos mostram associação entre o aumento glicemia crônica, aumento da resistência à insulina associados ao estresse oxidativo⁴⁸, bem como o aumento de tecido adiposo visceral e alterações oxidativas.⁴⁷ Estudos experimentais apontam que existe uma melhora do perfil oxidativo, redução dos marcadores de estresse oxidativo (MDA), nos animais treinados (resistido e concorrente). Nos estudos de CONTI, et al.,⁴⁷, estes verificaram que os ratos treinados apresentaram redução lipoperoxidação e aumento das defesas antioxidantes nos tecidos cardíacos e renais.

No que se refere à redução do tecido adiposo, existe a recomendação de uma rotina fisicamente ativa, devido ao aumento da atividade simpática-adrenal, aumento a taxa lipolítica, isso é possível porque durante o exercício físico ocorre maior liberação de adrenalina, sendo uma das responsáveis pela ativação da Lipase Hormônio Sensível, envolvida na lipólise.⁵⁷

Randeva et al.⁵⁸ mostraram em seu estudo que mesmo a taxa lipolítica basal no tecido adiposo é aumentada após 16 semanas de treinamento aeróbio, estimulada via aumento de catecolaminas, isso tem efeitos benéficos para as mulheres com SOP que apresentam a RI associada a obesidade, aumentar a oxidação de ácidos graxos é fundamental para redução dos fatores de riscos cardiovasculares presentes na patologia.

Em relação às manifestações androgênicas presentes em mulheres com SOP, o treinamento físico é recomendado para redução do peso corporal, como já dito, a melhora da sensibilidade à insulina e redução dos androgênios séricos, além do aumento da globulina carreadora dos hormônios sexuais (SHBG) sintetizada no fígado.¹ Além disso, exercícios aeróbicos realizados em intensidade moderada reduzem os níveis de LH⁵⁸, podendo reduzir sintomas androgênicos como a anovulação e hirsutismo.

4. METODOLOGIA

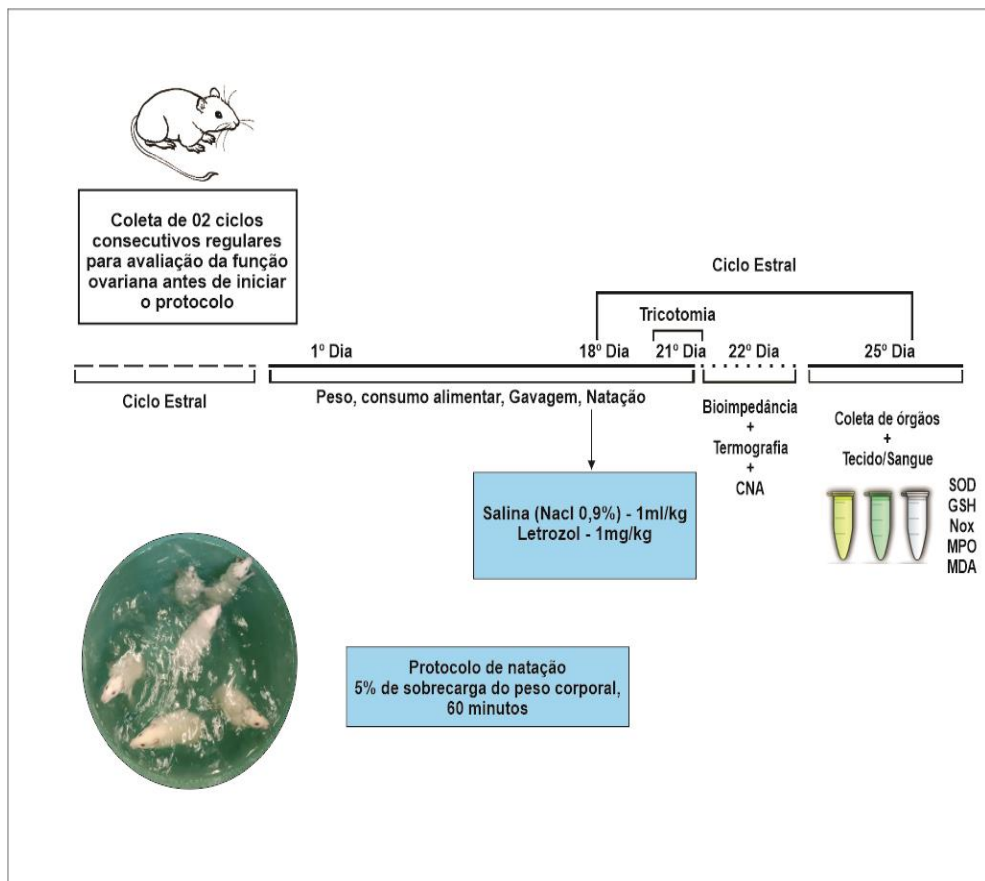
4.1 Animais e Princípios Éticos

Para este estudo foram utilizadas ratas, da linhagem Wistar, adultas, virgens e púberes, pesando aproximadamente (190 ± 30 g, n=08 a 10 por grupos), provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI). As ratas foram aleatoriamente divididas nos seguintes grupos: Controle, Síndrome do Ovário Policístico (SOP) e Síndrome do Ovário Policístico (SOP) + Exercício (SOP+Exercício). As ratas foram mantidas no biotério do Núcleo de Pesquisa de Plantas Mediciniais, onde permaneceram confinadas inicialmente em gaiolas coletivas, e mantidas em ambiente com água *ad libitum*, em temperatura de 22°C e em ciclo claro/escuro de 12 horas, com a fase clara de 6:00h às 18:00h.

Todos os procedimentos foram feitos de acordo com as normas éticas previstas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob registro nº 599/19.

A viabilidade do projeto foi atestada pela Carta de Aprovação, associada à supervisão do docente orientador do referido projeto, o qual foi executado no Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal, bem como nas demais instalações laboratoriais.

Figura 05. Desenho Experimental do Estudo.



Fonte: Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal. Elaborada pela autora, 2022.

4.2 Protocolo de citologia vaginal

A determinação dos ciclos estrais foi realizada através da coleta de lavado vaginal, utilizando uma pipeta de Pasteur (1,5ml) inserida no início da vagina das ratas (não profundamente), sendo injetado e aspirado um volume de aproximadamente 0,9 ml de solução salina (NaCl 0,9%). Logo em seguida, o volume aspirado foi colocado em uma lâmina histológica e examinado junto a um microscópio de luz, usando objetivas de 10x e 40x de aumento.^{59,60,61}

Todas as ratas foram submetidas coleta diária de secreções vaginais, durante 02 ciclos consecutivos regulares, para avaliação da função ovariana, além disso, durante os 08 dias antes da eutanásia foram novamente realizadas as coletas vaginais. Os lavados vaginais aconteceram entre 6h:00min e 7h:00min, sendo observado as fases de acordo com o tipo celular predominante, sendo determinada a fase do ciclo estral das ratas: Proestro (células epiteliais nucleadas); Estro (células cornificadas); Metaestro (células cornificadas e leucócitos); Diestro (leucócitos).^{62,63}

4.1 Protocolo de Indução da Síndrome do Ovário Policístico

A indução da Síndrome do Ovário Policístico foi realizada de acordo com o método descrito por Sasikala; Shamila³⁷, Jadhav et al.⁶⁴ e Sherafatmanesh et al.⁶⁵. A Síndrome do Ovário Policístico foi induzida pela administração de letrozol (1mg / kg via oral) por um período de 21 dias consecutivos. O grupo controle foi tratado apenas com salina 0.9%. Para fins de verificação de indução da SOP via Letrozol, foi observado a ausência de ciclos normais das ratas onde as ratas com SOP ficavam sempre em diestro conforme descrito por RYAN; MALIK; MELLON⁴.

4.2 Protocolo de Exercício Físico

O protocolo de exercício físico foi realizado de acordo com Sousa et al.⁶⁶ amplamente utilizado em nosso laboratório de exercício e trato gastrointestinal. Previamente ao protocolo de natação as ratas passaram por um período de adaptação ao meio líquido sem sobrecarga durante 05 dias (10 minutos no primeiro dia, 20 minutos no segundo dia, 30 minutos no terceiro dia, 40 minutos no quarto e quinto dia). Após o período de adaptação, as ratas foram submetidas ao treinamento juntamente com a indução da Síndrome do Ovário Policístico ou somente exercício físico. O exercício consistiu de um exercício aeróbio de natação coletiva em um tanque circular (diâmetro, 120 cm; profundidade, 90 cm) com água em temperatura de 32 +/- 2°C 1 hora por dia, durante 21 dias.

4.5 Protocolo de Consumo Alimentar

O consumo alimentar foi avaliado ao longo dos 21 dias em todos os grupos estudados. Sendo as ratas colocadas em gaiolas individuais, e monitorada diariamente o consumo de ração entre às 8h e 9h. Cada rata recebeu 40g de ração padrão em pellets (Presence Ratas e Camundongos® - Agribands Purina do Brasil LTDA) diariamente, sendo a sobra quantificada 24 horas após a oferta, avaliando assim, a ingestão diária determinada pela diferença simples entre o que foi ofertado e a sobra de ração.⁶⁷ A composição centesimal da ração utilizada está apresentada na tabela 02.

Tabela 02 - Composição centesimal da ração padrão utilizada.

	100g	40g
Caloria (kcal/100g)	380,00	152,00
Carboidratos (g/100g)	63,00	25,20
Proteínas (g/100g)	23,00	9,20
Lipídios (g/100g)	4,0	1,60

Fonte: SILVA et al., 2014⁶⁸.

A partir do consumo alimentar de cada rata, realizou a avaliação dos seguintes parâmetros nutricionais conforme Oliveira et al.⁶⁹:

- ✓ **Ingestão energética (IE – kcal/dia)** = média do consumo de ração x energia metabolizável da dieta;
- ✓ **Eficiência alimentar (EA - %)** = (ganho de peso corporal médio x 100) / ingestão energética;
- ✓ **Ingestão alimentar voluntária (IVA - %)** = (média do consumo de ração (g) x 100) / peso corporal médio).

4.6 Parâmetros Murinométricos

O peso corporal das ratas foi monitorado diariamente ao longo da execução dos protocolos, e o comprimento naso-anal (CNA/cm) foi determinado com as ratas anestesiadas (ketamina – 100mg/kg e xilazina – 10mg/kg, via intramuscular) após os 21 dias antes da eutanásia, possibilitando a determinação dos seguintes índices murinométricos, de acordo com o protocolo de Oliveira et al.⁶⁹:

$$\checkmark \text{ Índice de Massa Corporal (IMC)} = \frac{\text{Peso Corporal (g)}}{\text{CNA}^2 (\text{cm}^2)}$$

$$\checkmark \text{ Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso Corporal (g)}}}{\text{CNA(cm)}}$$

✓ Para avaliação da Taxa Específica do Ganho de Peso (TEGP)

$$\checkmark \text{ TEGP} = \frac{dM}{M} \times dt, \text{ onde:}$$

dM – Peso Corporal durante dt (dt = t2 – t1)

M – Peso Corporal do Rato em t1

Figura 06 - Verificação do comprimento naso-anal (CNA).



Fonte: Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal. Elaborada pela autora, 2022.

4.7 Termografia Infravermelha

A termografia infravermelha foi determinada utilizando uma câmera termográfica infravermelha da marca FLIR tools C2. Após 21 dias de protocolo as ratas foram submetidas ao processo de tricotomia para melhor mensuração da temperatura local na região do dorso das ratas. Para avaliação os animais foram colocados em caixa, sozinhos e deixando livre afim de evitar o estresse ao animal, em seguida foram feitas imagens termográficas infravermelha, na região onde o tecido marrom se localiza e área mensurada foi a região branca das imagens. As imagens foram processadas pelo programa software Flir Tools™, com uso de polígonos para mensurar a temperatura da área estudada. A temperatura corporal é representada graficamente e para cada escala de temperatura há uma tonalidade de coloração diferente atribuída.

4.8 Avaliação da Composição Corporal por Bioimpedância

Para avaliação da composição corporal, foi utilizado o método de Bioimpedância por espectroscopia (BIS) – ImpediMED® descrito por Hu, et al.⁷⁰

Inicialmente, as ratas, em estado de jejum, foram pesadas e anestesiadas (ketamina – 100mg/kg e xilazina – 10mg/kg, via intramuscular) sendo em seguida, colocados numa superfície plana não condutiva com abdome em contato, membros superiores e inferiores ao lado do corpo e cauda estendida. Os eletrodos e as 4 agulhas hipodérmicas foram inseridos subcutaneamente ao longo da linha média das costas de acordo com as instruções do fabricante. As agulhas foram alocadas subdermicamente no animal nos seguintes pontos: 1 – na região frontal do animal (1 cm acima do ápice do nariz); 2 – abaixo da orelha; 3 – músculo da coxa do roedor que encontra o corpo até a linha média; 4 – base da cauda do animal, sendo os eletrodos anexados em seguida.

O comprimento entre as agulhas 2 e 3 foi mensurado ao longo da linha média, obtido com auxílio de uma fita métrica padrão, juntamente com idade e massa corporal das ratas e utilizado para os cálculos dos diferentes parâmetros pelo dispositivo da BIS. Posteriormente foram conectados ao aparelho para mensuração da composição corporal.

Figura 07 - Bioimpedância por espectroscopia.



Fonte: Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal. Elaborada pela autora, 2022.

4.9 Teste de Tolerância à Glicose (TTG)

O teste de tolerância a glicose oral foi determinado após 21 dias no grupo controle, síndrome do ovário policístico e síndrome do ovário policístico+exercício. O teste consistiu na administração de uma sobrecarga de glicose (75 mg /100g p.c.) por gavagem após jejum de 12 horas e, sendo em seguida, realizada a medição dos níveis de glicose capilar através da veia da cauda com um glicosímetro. As medidas foram realizadas nos tempos basal, 5, 15, 30, 60 e 90 minutos após a administração de glicose. A área sob a curva foi calculada com base nos valores da curva de glicose de cada animal.⁷¹

4.10 Pesagem dos Animais, Órgãos e tecidos

Durante todo o protocolo experimental, foi realizada a medida do peso corporal em todos os grupos. A pesagem foi realizada em uma balança digital Sf-400 de alta precisão eletrônica 1g a 10 kg, onde as ratas foram colocadas em uma caixa de plástico, sendo ignorado o peso da caixa e considerado apenas o peso do animal.⁷²

A medição do peso dos órgãos e tecidos foi realizada de acordo com Telles et. al.⁷³, onde, após a eutanásia das ratas, realizou-se uma laparotomia mediana e por conseguinte a retirada os seguintes órgãos e tecidos: útero, ovário, tecido adiposo epididimal, retroperitoneal, marrom, músculo gastrocnêmio, fundo, corpo, duodeno, jejuno, íleo, cólon, plexo mesentérico. Após esse procedimento, os pesos, em gramas, dos diferentes tipos de órgãos foram registrados em uma balança analítica Bel Mark M214ai.

4.11 Avaliação do Estresse Oxidativo

4.11.1 Determinação do nível de Malondialdeído (MDA)

As amostras dos tecidos adiposo marrom e branco foram homogeneizadas em solução fria de KCl 1,15% (1 ml/100 mg de tecido). Resumidamente, 250 µl de cada homogenato foram adicionados a 1% de ácido fosfórico (H₃PO₄) e 0,6% de ácido tiobarbitúrico (solução aquosa). Em seguida, esta mistura foi agitada e aquecida em banho-maria fervente por 45 min. Em seguida, foi imediatamente resfriado em banho de água gelada seguido da adição de

4 ml de n-butanol. Esta mistura foi agitada e a camada de butanol foi separada por centrifugação a 1.200 rpm por 15 min. Sua densidade óptica foi determinada tanto em 535 quanto em 520 nm, e a diferença nos valores de densidade óptica foi considerada o valor do ácido tiobarbitúrico. Os resultados são expressos em nanomoles por miligrama de tecido (nmol/mg de tecido).⁷⁴

4.11.2 Determinação da Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Usando amostras do tecido adiposo, um homogeneizado a 10% foi preparado e centrifugado a 3.000 rpm por 15 min a 4°C. Posteriormente, cada amostra foi adicionada à solução de fosfato, L-metionina (20 mM), Triton X-100 (1% v/v), cloreto de hidroxilamina (10 mM) e EDTA (50 µM). Os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C por cinco minutos. Riboflavina (50 µM) foi adicionada e todas as medidas foram corrigidas em uma caixa de luz branca por 10 min. A solução foi então transferida para uma placa de ELISA, seguida da adição do reagente de Griess, após foi realizado uma leitura em um leitor de ELISA a 550 nm. Os resultados são expressos em unidade SOD no tecido.⁷⁵

4.11.3 Determinação dos níveis de Nitrato/Nitrito (Nox)

A produção de óxido nítrico no tecido adiposo dos animais foi avaliada indiretamente por meio da quantificação dos níveis de nitrato (NO₃⁻) e nitrito (NO₂⁻) (coletivamente denominados NO_x), utilizando o Griess. As amostras foram maceradas em solução de cloreto de potássio (KCl, 0,15 M) e o homogeneizado foi centrifugado sob refrigeração. Em seguida, o sobrenadante (100 µL foi misturado com o reagente de Griess (100 µ) (ácido fosfórico, sulfanilamida e dicloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina). Após 10 min, a absorbância das amostras foi medida em 540 nm. Resultados foram expressos como micromoles (Mm/mg de tecido).⁷⁶

4.11.4 Determinação Da Atividade da Mieloperoxidase (MPO)

Os tecidos adiposos foram homogeneizados em tampão de potássio com 0,5% de hexil trimetilamônio (HTAB) (1 ml/100 mg de

tecido). Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 4500 rpm por 20 min. A atividade de MPO no sedimento ressuspenso foi avaliada medindo a alteração na absorvância a 450 nm utilizando dicloridrato de o-dianisidina e peróxido de hidrogénio a 1%. Os resultados foram expressos em unidades de MPO por mg de tecido (UMPO/mg de tecido).⁷⁷

4.11.5 Determinação das Concentrações de Glutathiona (GSH)

A concentração de GSH nas amostras de tecido adiposo foi analisada de acordo com o método descrito por SILVA et al.⁷⁷ Para determinar os níveis dos grupos sulfidril não proteicos, amostras entre 50 - 100 mg no tecido adiposo das ratas foram homogeneizadas na concentração de 1 ml de ED2 0,02 M para cada 100 mg de tecido. Alíquotas de 400 µL do homogenato foram misturadas em 320 µL de água destilada e 80 µL de ácido tricloroacético (TCA) 50% para que ocorresse a precipitação das proteínas. Os tubos contendo o material foram centrifugados por 15 minutos a 3.000 rpm/4°C. Em seguida, 400 µL do sobrenadante foi adicionado a 800 µL de tampão Tris 0,4 M (pH 8,9) e 20 µL de ácido ditioi-nitrobenzóico (DTNB, ou reagente de Ellman). Em seguida, a mistura foi agitada por 3 min e sua absorvância foi lida por um espectrofotômetro a 412 nm. As concentrações dos grupos sulfidril não proteicos foram expressas em mg NPSH/mg de tecido.

4.11 Análise Estatística

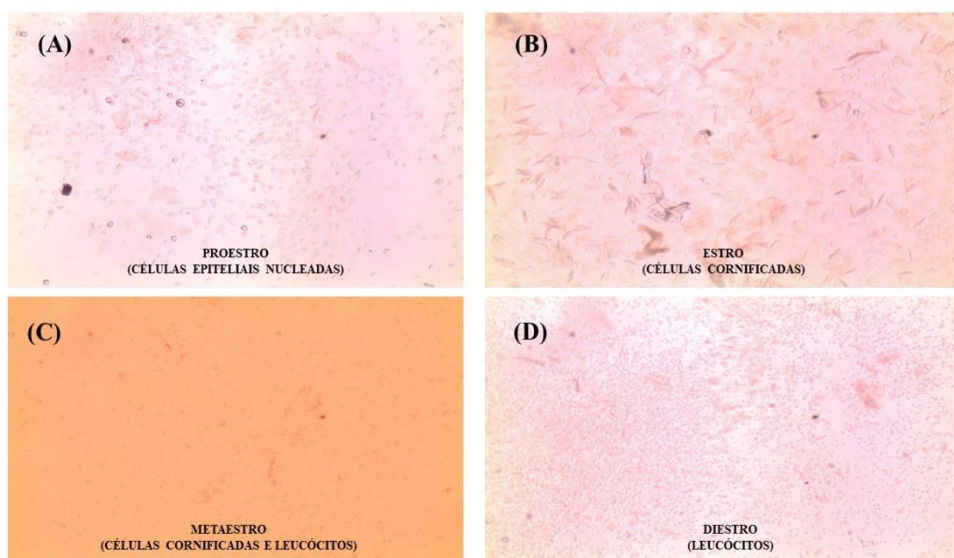
Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM), utilizando o programa *GraphPad Prism* 8.0 (San Diego, Califórnia). Para análise estatística utilizou a análise de variância (One ou Two-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Já a comparação inter-grupos dos resultados foi feita mediante teste de “t” de *Student*, assumindo como significante valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Fase do Ciclo Estral

Na figura 8 mostra padrão do ciclo estral nos últimos 08 dias antes da eutanásia. Os animais que receberam letrozol apresentaram ciclo estral irregular e estavam predominantemente em diestro, o que reflete o perfil hormonal alterado.

Figura 8. Padrão do Ciclo Estral

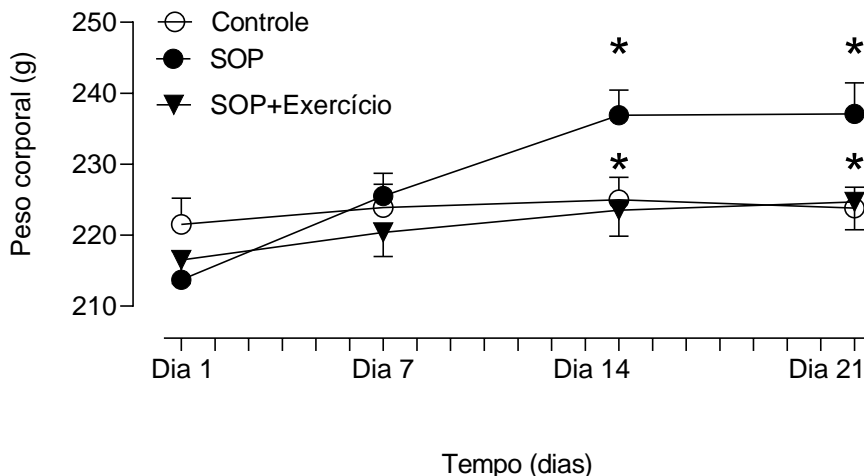


Legenda: padrão do ciclo estral nos últimos 08 dias antes da eutanásia. Proestro (A), Estro (B), Metaestro (C), Diestro (D).

5.2 Curva de Peso Corporal e Delta do Ganho de Peso

A figura 9 mostra os resultados do peso corporal das ratas dos grupos Controle, SOP e SOP+Ex, durante os 21 dias de treinamento. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) no ganho de peso corporal do grupo SOP em relação ao controle no 14º dia ($239,50 \pm 3,74$ vs. $225,80 \pm 3,07$ g) e 21º dia ($237,1 \pm 4,36$ vs. $223,8 \pm 2,95$ g). E redução significativa ($p < 0,05$) no ganho de peso corporal do grupo SOP+EX em relação a SOP no 14º e 21º dias (14º dia: $223,70 \pm 3,36$ vs. $236,90 \pm 3,53$; 21º dia: $224,70 \pm 3,94$ vs. $237,10 \pm 4,35$).

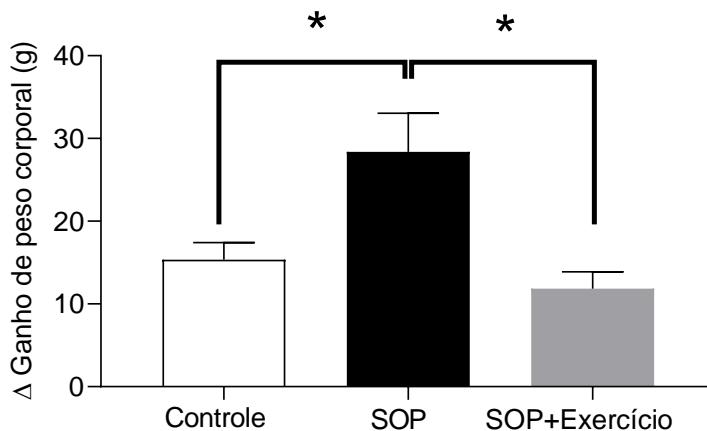
Figura 9. Curva de peso corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Peso corporal de ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0,05$ vs controle.

A figura 10 mostra os resultados do delta de ganho de peso corporal das ratas dos grupos Controle, SOP e SOP+Ex. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) no ganho de peso corporal do grupo SOP em relação ao controle ($28,4 \pm 4,7g$ vs. $15,4 \pm 2,0g$) e redução significativa ($p < 0,05$) no delta de ganho de peso corporal do grupo SOP+Ex quando comparado aos animais SOP ($11,9 \pm 2,0g$ vs. $28,4 \pm 4,7g$).

Figura 10. Delta do ganho de peso das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

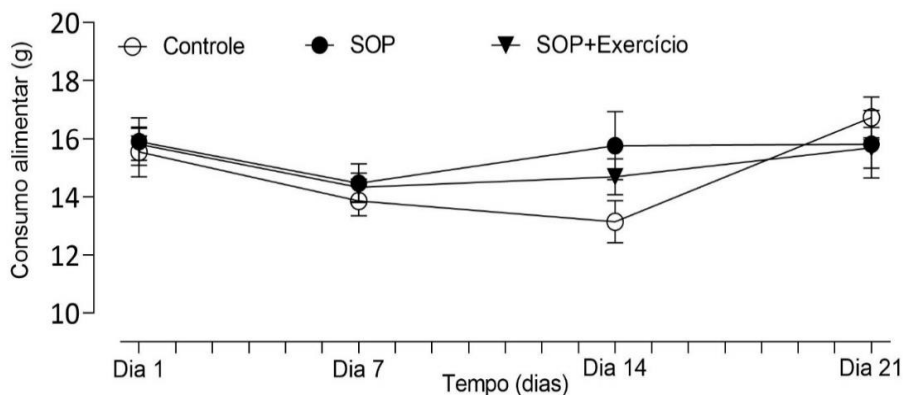


Legenda: Delta do ganho de peso corporal ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média ± EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs controle; SOP+Ex vs SOP.

5.3 Consumo Alimentar

Na figura 11 mostra o consumo alimentar das ratas dos grupos Controle, SOP e SOP+EX. Não foi possível verificar diferença significativa diante dos dados apresentados em relação ao consumo alimentar ($p > 0,05$).

Figura 11. Curva de consumo alimentar das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

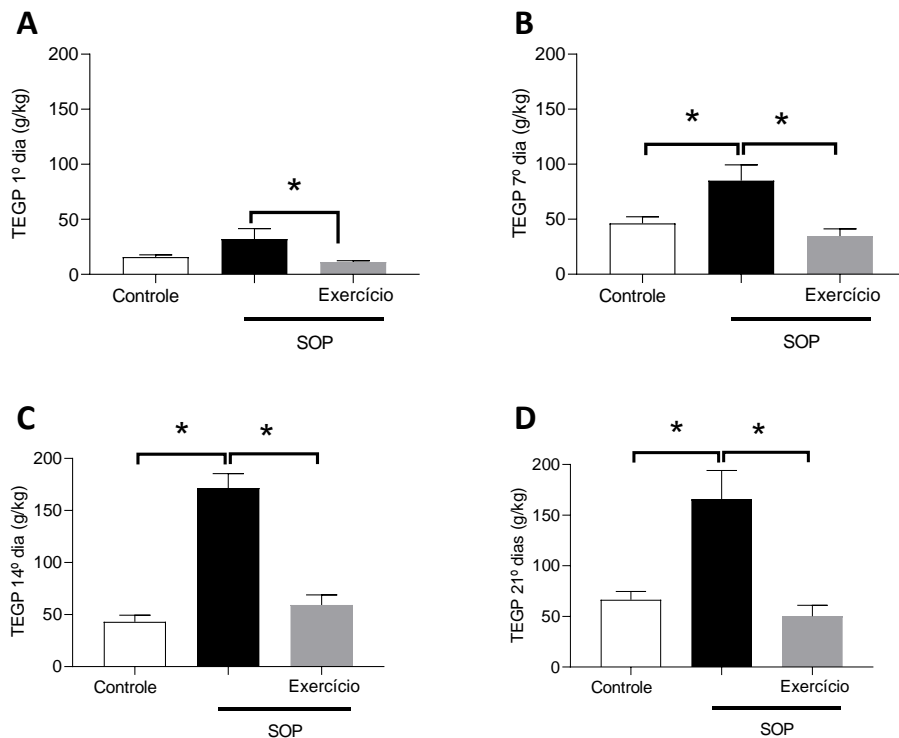


Legenda: Consumo alimentar das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via 2-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5.4 Taxa Específica do Ganho de Peso 1° dia, 7 ° dia, 14 ° dia, 21° dia de tratamento e/ou treinamento

Na figura 12 mostra os resultados da TEGP em g/kg no 1° dia, 7 ° dia, 14 ° dia, 21° dia das ratas controle, SOP e SOP+EX. A figura 12A apresenta a TEGP dos animais controle, SOP e SOP+EX no 1° dia, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o grupo SOP+EX e SOP ($11,2 \pm 1,2 \text{g/kg}$ vs. $32,1 \pm 9,5 \text{g/kg}$). Na figura 12B, C e D mostra os dados da TEGP dos grupos experimentais, apresentando aumento significativo ($p < 0,05$) da TEGP entre o grupo SOP em relação ao grupo controle no 7°, 14° e 21° dias de protocolo (7d: $85,1 \pm 14,4 \text{g/kg}$ vs. $46,2 \pm 6,0 \text{g/kg}$; 14d: $171,7 \pm 13,8 \text{g/kg}$ vs. $43,0 \pm 6,4 \text{g/kg}$; 21d: $165,7 \pm 28,4 \text{g/kg}$ vs. $66,4 \pm 8,2 \text{g/kg}$). Por outro lado, houve redução significativa ($p < 0,05$) da TEGP quando comparado grupo SOP+EX em relação ao SOP no 7°, 14° e 21° dias de tratamento (7d: $34,8 \pm 6,4 \text{g/kg}$ vs. $85,1 \pm 14,4 \text{g/kg}$; 14d: $59,2 \pm 9,6 \text{g/kg}$ vs. $171,7 \pm 13,8 \text{g/kg}$; 21d: $50,2 \pm 10,8 \text{g/kg}$ vs. $165,7 \pm 28,4 \text{g/kg}$).

Figura 12. Taxa Específica do Ganho de Peso 1° dia, 7 ° dia, 14 ° dia, 21° dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.



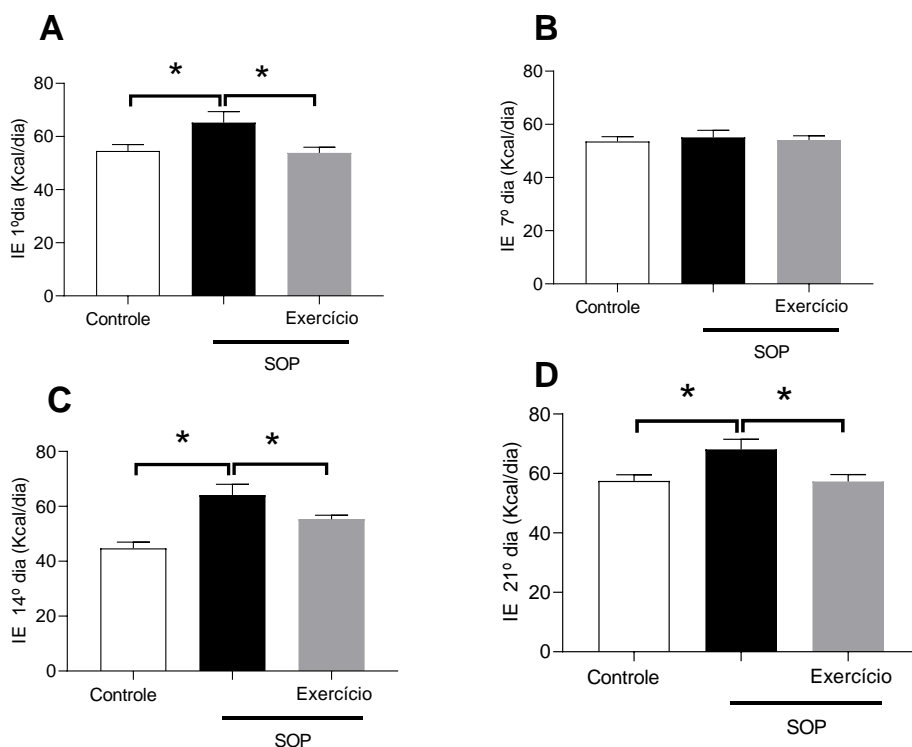
Legenda: Taxa Específica de Ganho de Peso (TEGP-g/kg) em 1º dia (A), 7º dia (B), 14º dia (C), 21º dia (D) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs controle; SOP+Ex vs SOP.

5.5 Parâmetros Nutricionais no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia de tratamento e/ou treinamento

Na figura 13 mostra os dados da ingestão energética em kcal no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+EX. Na figura 13A, B, C e D evidenciam aumento significativo ($p < 0,05$) da IE entre o grupo SOP em relação ao grupo controle no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dias de protocolo (1d: $65,2 \pm 4,1$ kcal/dia vs. $54,6 \pm 2,4$ kcal/dia; 7d: $55,1 \pm 2,7$ kcal/dia vs. $53,6 \pm 1,8$ kcal/dia; 14d: $64,0 \pm 4,0$ kcal/dia vs. $44,7 \pm 2,3$ kcal/dia; 21d: $68,1 \pm 3,4$ kcal/dia vs. $57,5 \pm 2,1$ kcal/dia). Em contrapartida quando comparado grupo SOP+EX em relação ao SOP, houve redução significativa ($p < 0,05$) da ingestão alimentar no 1º dia, 7º

dia, 14^o dia e 21^o dias de tratamento (1d: 53,8±2,1kcal/dia vs. 65,2±4,1kcal/dia; 7d: 54,1±1,6kcal/dia vs. 55,1±2,7kcal/dia; 14d: 55,3±1,5kcal/dia vs. 64,0±4,0kcal/dia; 21d: 57,3±2,3kcal/dia vs. 68,1±3,4kcal/dia).

Figura 13. Ingestão energética no 1^o dia, 7^o dia, 14^o dia, 21^o dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

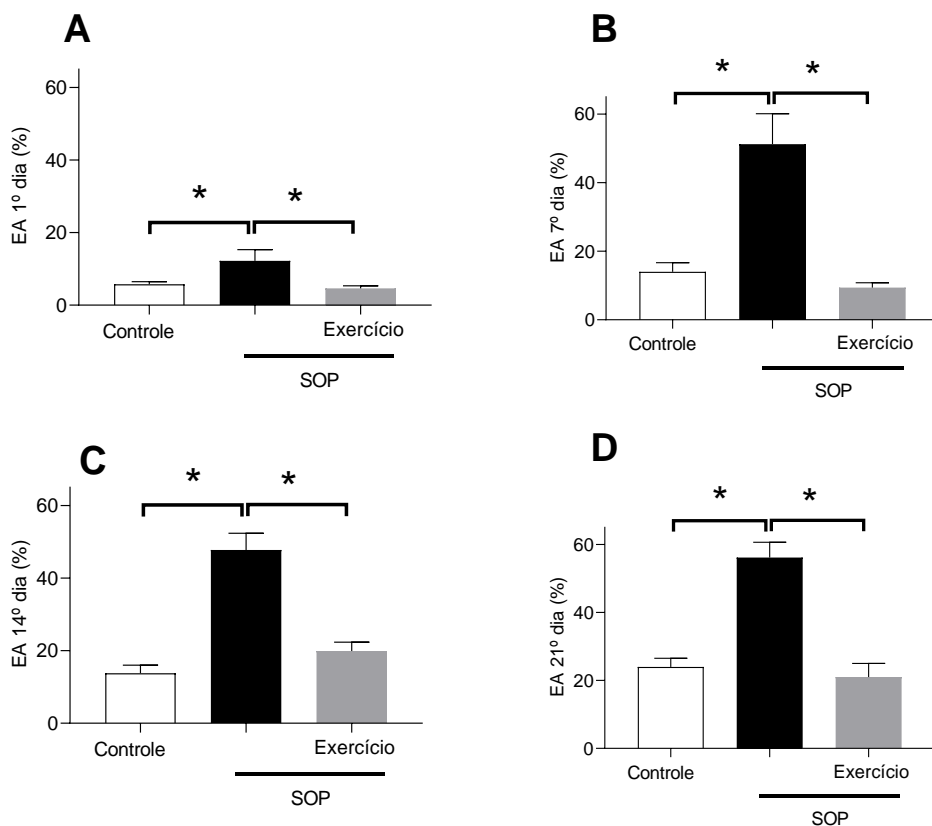


Legenda: Ingestão energética (IE-Kcal/dia) no 1^o dia (A), 7^o dia (B), 14^o dia (C), 21^o dia (D) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média ± EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0,05$ SOP vs controle; SOP+Ex vs SOP.

Na figura 14 mostra os dados da EA (%) no 1^o dia, 7^o dia, 14^o dia, 21^o dia das ratas controle, SOP e SOP+EX. Na figura 14A, B, C e D evidenciam aumento significativo ($p < 0,05$) da eficiência alimentar entre o grupo SOP em relação ao grupo controle no 1^o, 07^o, 14^o e 21^o dias de protocolo (1d: 12,2±3,1% vs. 5,8±0,7%; 7d: 51,2±8,9% vs.

14,0±2,6%: 14d:47,7±4,6% vs. 13,8±2,2%: 21d: 56,1±4,5% vs. 23,9±2,6). Por outro lado, houve redução significativa ($p<0,05$) da eficiência alimentar em 1°, 07°, 14° e 21° dias entre o grupo SOP+EX em relação ao SOP (1d: 4,6±0,7% vs. 12,2±3,1%; 7d:9,4±1,4% vs. 51,2±8,9%; 14d:19,9±2,4% vs. 47,7±4,6%; 21d:21,0±4,0% vs. 56,1±4,5%).

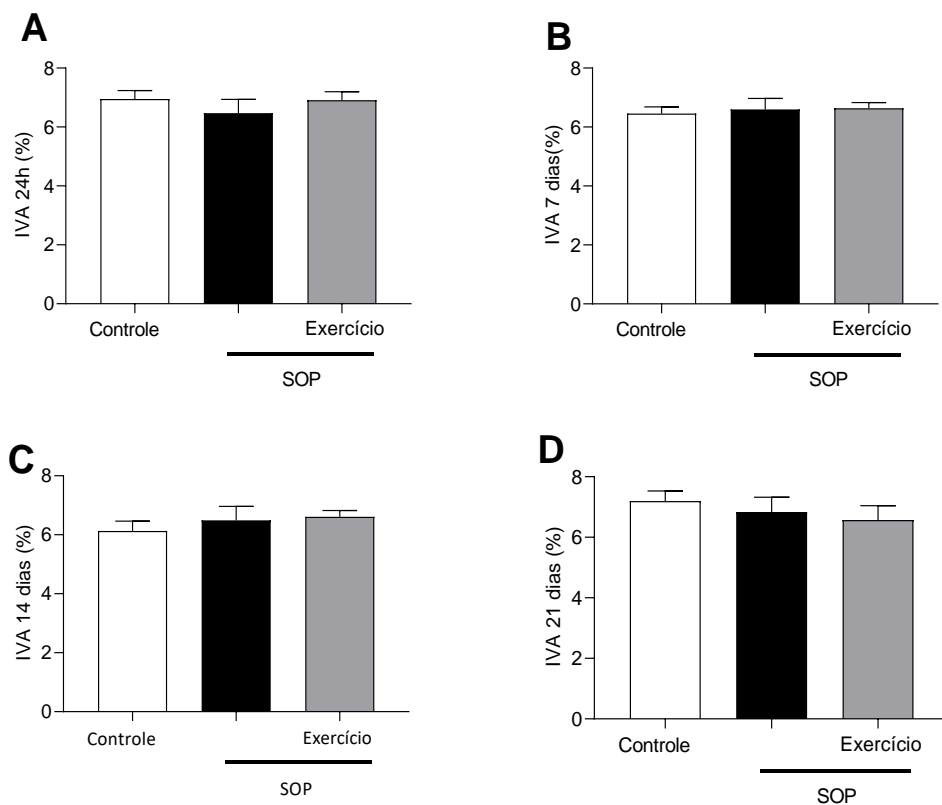
Figura 14. Eficiência alimentar no 1° dia, 7° dia, 14° dia, 21° dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Eficiência alimentar (EA-%) no 1° dia (A), 7° dia (B), 14° dia (C), 21° dia (D) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média ± EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0,05$ SOP vs controle; SOP+Ex vs SOP.

Na figura 15 mostra a ingestão alimentar voluntária (IVA-%) no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+EX ($p>0,05$). Nenhuma diferença significativa foi encontrada para esse parâmetro nutricionais nos dias estudados entre os grupos comparados.

Figura 15 - Ingestão alimentar voluntária no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

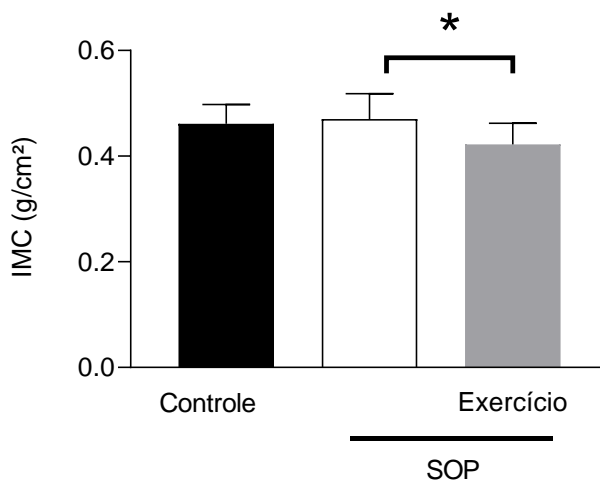


Legenda: Ingestão alimentar voluntária (IVA-%) no 1º dia (A), 7º dia (B), 14º dia (C), 21º dia (D) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p<0,05$ foram considerados significativos.

5.6 Índice de Massa Corporal após 21 dias tratamento e/ou treinamento

Na figura 16 mostra resultados do Índice de Massa Corporal das ratas controle, SOP e SOP+EX após os 21 dias de protocolo. Houve diminuição significativa ($p > 0,05$) do IMC quando comparado o grupo SOP tratado com exercício físico em relação ao grupo SOP ($0,42 \pm 0,01 \text{ g/cm}^2$ vs. $0,47 \pm 0,02 \text{ g/cm}^2$).

Figura 16. Índice de Massa Corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

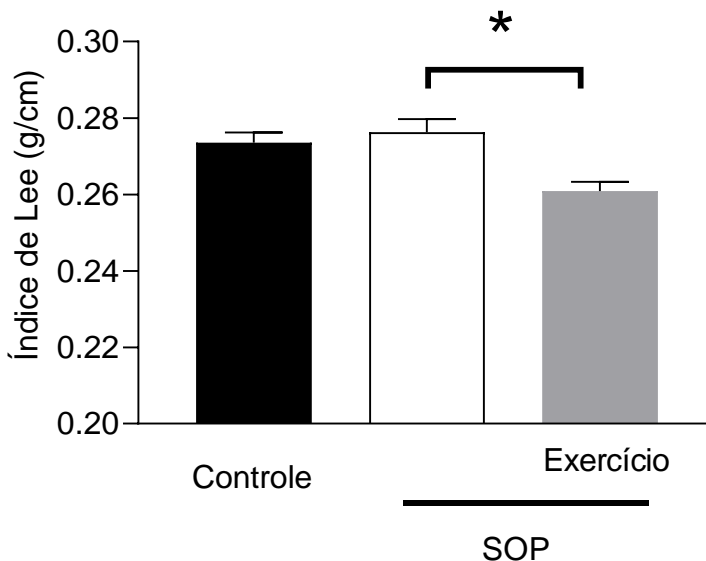


Legenda: Índice de Massa Corporal (IMC-g/cm²) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média ± EPM, e a análise realizada foi via 2-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0,05$ SOP+Ex vs SOP.

5.7 Índice de Lee das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício

Na figura 17 mostra os dados do Índice de Lee das ratas controle, SOP e SOP+EX, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os animais do grupo SOP+EX em relação aos animais do grupo SOP ($0,264 \pm 0,002 \text{ g/cm}$ vs. $0,276 \pm 0,003 \text{ g/cm}$).

Figura 17. Índice de Lee das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

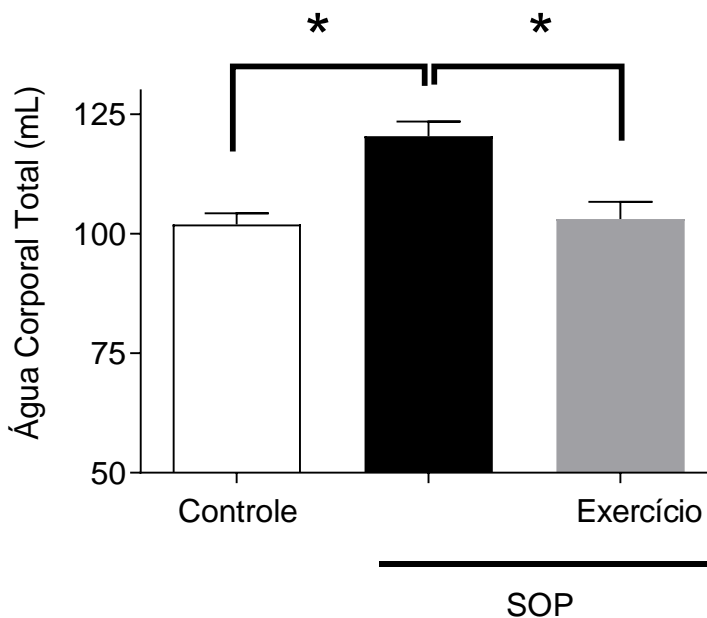


Legenda: Índice de Lee (IL-g/cm^2) das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via 2-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP+Ex vs SOP.

5.8 Composição Corporal mediante Bioimpedância por espectroscopia (BIS)

Na figura 18 estão apresentados os dados da água corporal total dos grupos experimentais, houve diferença significativa ($p < 0,05$) no volume de água corporal total entre os grupos controle e SOP ($102,0 \pm 2,32\text{mL}$ vs. $120,0 \pm 3,07\text{ml}$) e entre os grupos SOP e SOP+EX ($120,0 \pm 3,07\text{ml}$ vs. $103,1 \pm 3,60\text{ml}$).

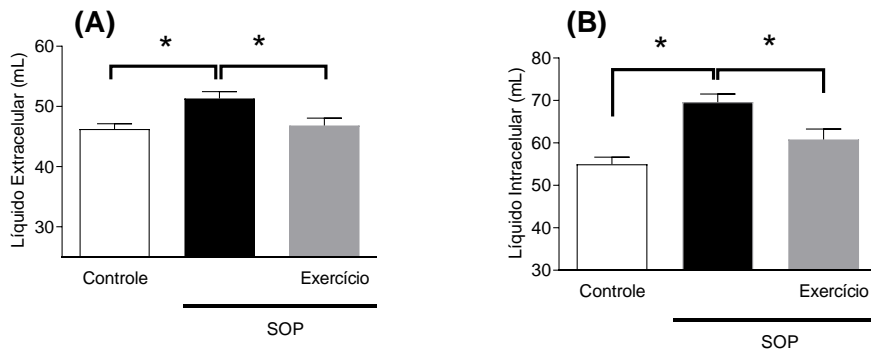
Figura 18. Água corporal total das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Água corporal total das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs Controle; SOP+Ex vs SOP.

Na figura 19A estão apresentados os dados do líquido extracelular nas ratas controle, SOP, SOP+EX, houve diferença ($p < 0,05$) significativa no líquido extracelular entre os grupos Controle e SOP ($46,57 \pm 0,84g$ vs. $51,33 \pm 1,13g$) e entre o grupo SOP+EX e SOP ($46,76 \pm 1,12g$ vs. $51,33 \pm 1,13g$). Na figura 19B mostra os resultados do líquido intracelular dos grupos experimentais, houve aumento significativo ($p < 0,05$) no líquido intracelular do grupo SOP em relação ao controle ($69,61 \pm 1,92ml$ vs. $54,99 \pm 1,66ml$), redução significativa ($p < 0,05$) entre o grupo SOP+EX em comparação ao SOP ($60,40 \pm 2,55g$ vs. $69,61 \pm 1,92g$).

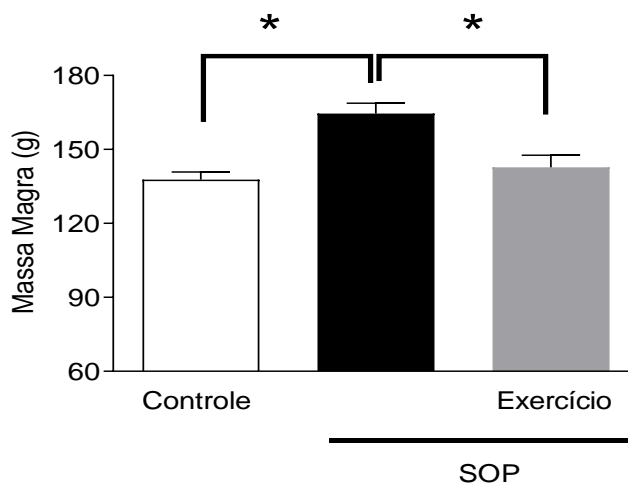
Figura 19. Volume de Líquido Extracelular e Volume de Líquido Intracelular das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Volume de líquido extracelular (A) e Volume de líquido intracelular (B) das ratas controle, SOP, SOP+Ex. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$.

A figura 20 mostra os resultados do percentual de massa magra das ratas dos grupos controle, SOP e SOP+EX. Houve diferença ($p < 0,05$) significativa no percentual de massa magra entre os grupos SOP e SOP+EX ($164,5 \pm 4,2g$ vs. $142,8 \pm 4,9g$) e entre os grupos Controle e SOP ($137,8 \pm 3,1g$ vs. $164,5 \pm 4,2g$).

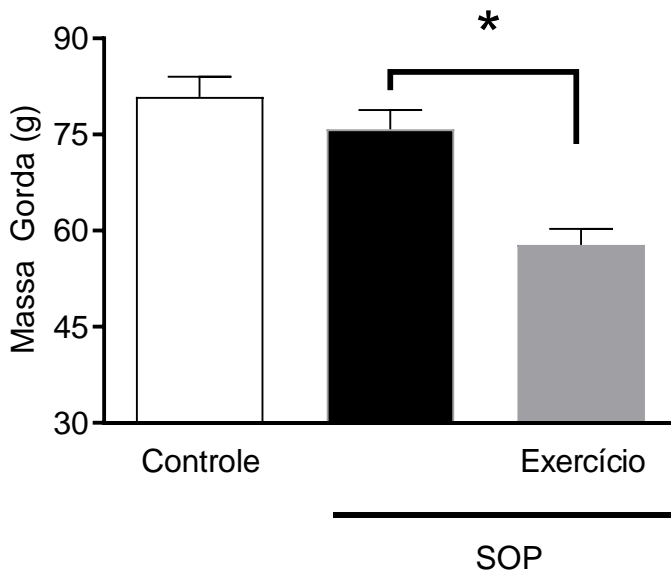
Figura 20. Percentual de massa magra das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Percentual de massa magra das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs Controle; SOP+Ex vs SOP.

A figura 21 mostra os dados do percentual de gordura corporal das ratas dos grupos controle, SOP e SOP+EX. Houve diminuição significativa ($p < 0,05$) no percentual de massa gorda do grupo SOP+EX em relação ao grupo SOP ($57,8 \pm 2,5g$ vs. $70,2 \pm 2,9g$).

Figura 21. Percentual de gordura corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.

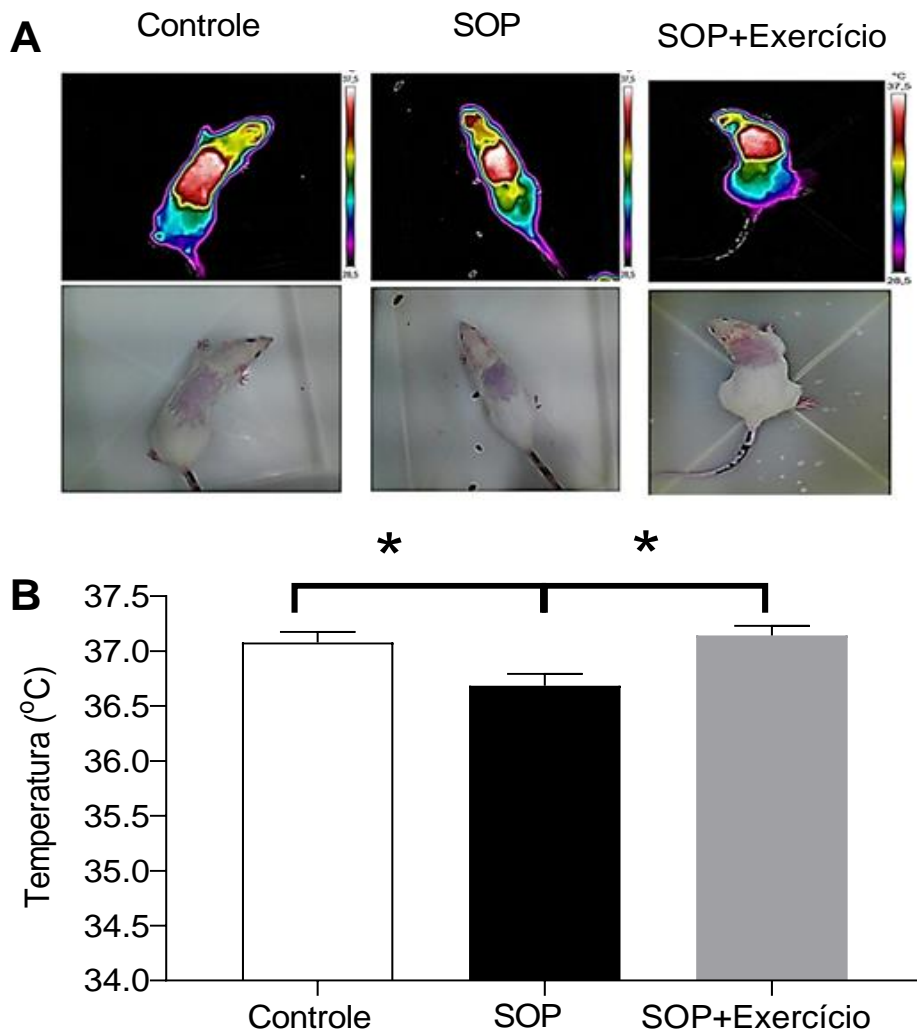


Legenda: Percentual de gordura corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via 2-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP+Ex vs SOP.

5.9 Registros da Temperatura Corporal após 21 dias de treinamento e/ou acompanhamento

A figura 22 mostra o perfil de temperatura corporal de ratas dos grupos controle, SOP e SOP+EX. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) na temperatura corporal do grupo SOP+EX em relação ao SOP ($37,1 \pm 0,1^\circ\text{C}$ vs. $36,7 \pm 0,1^\circ\text{C}$) e diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos Controle e SOP ($37,1 \pm 0,1^\circ\text{C}$ vs. $36,7 \pm 0,1^\circ\text{C}$).

Figura 22. Perfil de temperatura corporal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.

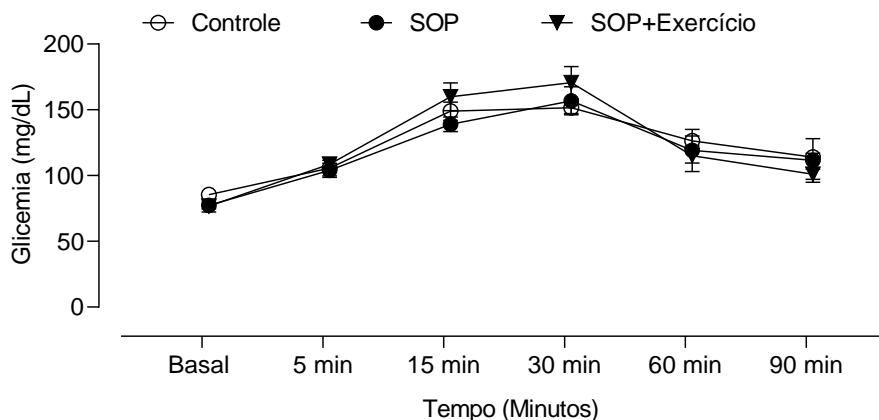


Legenda: Perfil da temperatura corporal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs Controle; SOP+Ex vs SOP.

5.10 Curva glicêmica das ratas Controle, SOP, SOP+EX

Na figura 23 estão os dados do teste de tolerância à glicose entre os animais, não foi possível verificar diferença significativa diante dos dados apresentados ($p>0,05$).

Figura 23 - Teste de Tolerância à Glicose das ratas controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Teste de Tolerância à das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via 2-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p<0,05$ foram considerados significativos.

5.11 Registros do Peso dos Tecidos e órgãos dos animais Controle, SOP e SOP+Exercício

Na tabela 03 estão o peso dos tecidos e órgãos dos animais Controle, SOP e SOP+Exercício, foi possível observar diminuição significativa ($p<0,05$) do peso do tecido adiposo retroperitoneal, epididimal e útero em ratas com SOP em relação ao grupo controle. O grupo SOP também apresentou aumento no peso dos ovários ($p<0,05$) quando comparado ao grupo controle. Além disso, observamos um aumento significativo ($p<0,05$) no tecido adiposo, gastrocnêmio e peso do útero da SOP+Exercício em comparação com ratas com SOP.

Tabela 03. Peso dos tecidos e órgãos dos grupos Controle, SOP e SOP+Exercício.

	Controle	SOP	SOP+Exercício
Peso dos tecidos e órgãos (g/100g)			
T.A. Retroperitoneal	1,66±0,349	0,80±0,132*	0,67±0,126
T.A. Epididimal	1,57±0,301	0,94±0,150*	1,12±0,082
T.A. Marrom	0,08±0,013	0,07±0,007	0,24±0,032#
Gastrocnêmico	1,236±0,024	1,234±0,026	1,353±0,025#
Útero	0,165±0,008	0,060±0,002*	0,075±0,003#
Ovário	0,045±0,002	0,064±0,003*	0,053±0,006

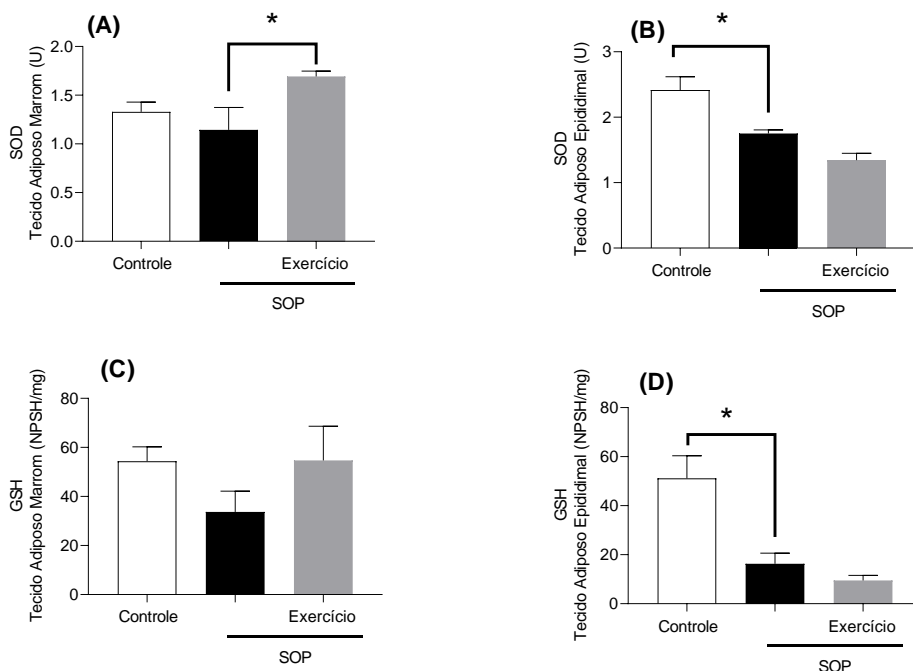
Legenda: Peso dos tecidos e órgãos das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0,05$ *SOP vs Controle p; # SOP+Exercício vs SOP.

5.12 Marcadores Pró-Oxidantes e Antioxidantes dos animais Controle, SOP e SOP+Exercício

A figura 24A mostra o aumento significativo ($p > 0,05$) na atividade da SOD em U no tecido adiposo marrom entre o grupo SOP+EX em relação ao SOP ($1,7 \pm 0,01U$ vs. $1,14 \pm 0,2U$). Já no tecido adiposo epididimal houve diferença significativa ($p > 0,05$) (figura 24B) nas concentrações da SOD entre o grupo SOP quando comparado ao grupo controle ($1,8 \pm 0,1U$ vs. $2,4 \pm 0,2U$).

A figura 24C mostra as concentrações de Glutathiona (GSH) em NPSH/mg no tecido adiposo marrom dos animais experimentais, nenhuma significância estatística ($p > 0,05$) foi encontrada. Por outro lado, houve diferença significativa ($p > 0,05$) (figura 24D) nas concentrações de Glutathiona (GSH) no tecido adiposo epididimal entre os grupos SOP quando comparado ao controle ($16,3 \pm 4,3NPSH/mg$ vs. $51,2 \pm 9,2 NPSH/mg$).

Figura 24. Concentrações de Superóxido dismutase (SOD-U) e Glutaciona Peroxidase (NPSH/mg) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Concentrações de Superóxido dismutase (SOD-U) (A,B) e Glutaciona Peroxidase (GSH-NPSH/mg) (C,D) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média \pm EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs Controle; SOP+Ex vs SOP.

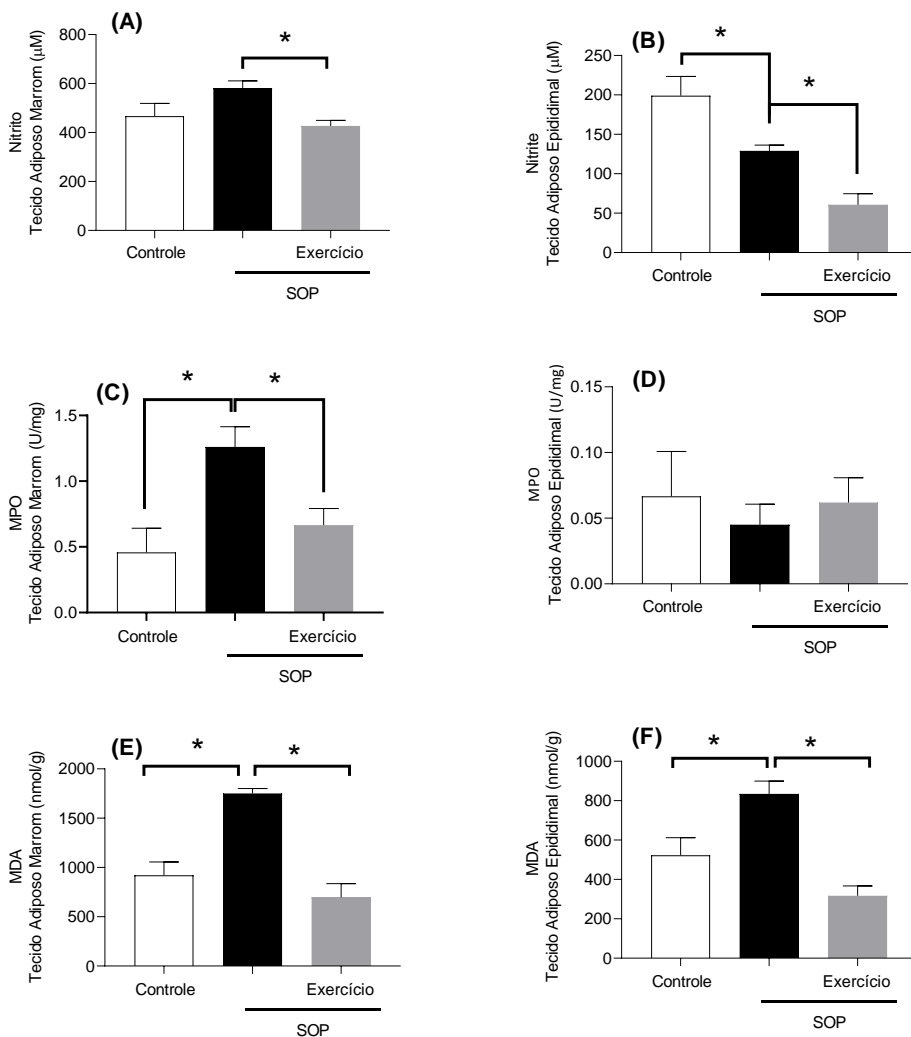
Na figura 25A mostra que houve diferença significativa ($p > 0,05$) nas concentrações de Nox em μM no tecido adiposo marrom dos animais do grupo SOP+EX e SOP ($426,8 \pm 23,1 \mu\text{M}$ vs. $467,3 \pm 51,8 \mu\text{M}$). Na figura 25B evidencia diferença significativa ($p > 0,05$) nas concentrações de Nox no tecido adiposo epididimal entre o grupo SOP e controle ($129,0 \pm 7,3 \mu\text{M}$ vs. $199,0 \pm 24,5 \mu\text{M}$) e uma redução significativa ($p > 0,05$) de Nox no grupo SOP+EX em relação ao grupo SOP ($60,7 \pm 14,0 \mu\text{M}$ vs. $129,0 \pm 7,3 \mu\text{M}$).

A figura 25C mostra que houve diferença ($p > 0,05$) estatística na concentração de MPO em U/mg no tecido adiposo marrom ao comparar

os animais do grupo SOP e controle ($1,3 \pm 0,2 \text{U/mg}$ vs. $0,5 \pm 0,2 \text{U/mg}$) e uma atividade reduzida significativa da MPO entre o grupo SOP+EX em relação ao SOP ($0,7 \pm 0,2 \text{U/mg}$ vs. $1,3 \pm 0,2 \text{U/mg}$). Em relação a atividade da MPO no tecido adiposo epididimal (A figura 25D) não expressou diferença significativa entre os grupos.

A figura 25E mostra aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração de MDA no tecido adiposo marrom no grupo SOP comparado ao controle ($1751 \pm 76,0 \text{nmol/g}$ vs. $920,3 \pm 201,8 \text{nmol/g}$), e quando comparado grupo SOP+EX em relação ao grupo SOP houve diminuição significativa ($p < 0,05$) da atividade de MDA ($697,3 \pm 201,9 \text{nmol/g}$ vs. $1751 \pm 76,0 \text{nmol/g}$). Na figura 25F apresenta diferença significativa ($p > 0,05$) nas concentrações de MDA no tecido adiposo epididimal entre os grupos SOP e controle ($834,6 \pm 64,8 \text{nmol/g}$ vs. $522,9 \pm 89,1 \text{nmol/g}$) e uma redução significativa ($p > 0,05$) de MDA no grupo SOP+EX em relação ao grupo SOP ($316,7 \pm 50,5 \text{nmol/g}$ vs. $834,6 \pm 64,8 \text{nmol/g}$).

Figura 25. Concentrações de Nitrito ($\text{Nox-}\mu\text{M}$), Malondialdeído (MDA-nmol/g), Mieloperoxidase (MPO-U/mg) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas Controle, SOP e SOP+Exercício.



Legenda: Concentrações de Nitrito (μM) (A,B), Mieloperoxidase (MPO-U/mg) (C,D) e Malondialdeído (MDA-nmol/g) (E,F) no tecido adiposo marrom e epididimal das ratas controle, SOP e SOP+Exercício. Os dados são expressos em média ± EPM, e a análise realizada foi via one-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Dados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * $p < 0.05$ SOP vs Controle; SOP+Ex vs SOP.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, usamos um modelo animal no qual ratas receberam letrozol para induzir um fenótipo de doença ovariana cística, evidenciando que ratas SOP induzidas por letrozol estavam em diestro constante. O mesmo padrão foi observado no estudo de Ryan; Malik; Mellon⁴. Nos últimos anos, os modelos mais usados envolvem a exposição de ratas ao letrozol, um inibidor de aromatase que age bloqueando a conversão de andrógenos em estrógenos, portanto induz o aumento de níveis de androgênios e mimetiza as disfunções metabólicas e reprodutivas presentes na SOP.

Os animais do grupo SOP apresentaram aumento de peso corporal significativo ao longo dos 21 dias em comparação ao grupo controle, resultado esperado devido a sintomatologia da doença, que inclui o aumento de peso, o que foi consistente com os resultados obtidos por Zhang et al.⁴⁴ Por outro lado, nossos achados confirmam que há uma diminuição significativa no peso corporal no grupo SOP tratados com exercício físico moderado. Semelhante aos resultados de Cao et al.⁷⁸, foi possível observar uma redução do peso em modelos SOP quando submetidos a natação de intensidade moderada.

A SOP é frequentemente associada a obesidade, o que pode exacerbar os resultados metabólicos e reprodutivos da síndrome, causando tolerância diminuída à glicose, dislipidemia, risco de câncer, resistência à insulina e infertilidade. Existem vários métodos para tratar a obesidade na SOP, estas incluem mudanças no estilo de vida, como alterações na dieta, prática e/ou aumento da atividade física.⁷⁹ A intervenção no estilo de vida é considerada uma estratégia de terapia inicial efetiva em mulheres com SOP. Diversos estudos têm mostrado que o exercício físico conseguiu prevenir o ganho de peso ocasionado pela SOP, melhora os sintomas característicos da síndrome, aumenta a sensibilidade à insulina e a taxa de ovulação espontânea ou induzida.^{78,80,81}

Em relação a TEGP, a mesma aumentou em todos os dias avaliado, exceto no 1º dia, quando comparado o controle com grupo SOP, contudo, verificou uma redução significativa quando houve a intervenção do exercício físico no grupo SOP+Exercício. Evidências científicas demonstram que a SOP provoca aumento do peso corporal e que o exercício físico promove redução do ganho de peso, logo a perda de peso de 5 a 10% tem benefícios metabólicos e reprodutivos na

doença estudada.⁸² Além disso, mudanças no estilo de vida podem promover melhora dos sintomas da ansiedade, produção normal de andrógenos e influência sobre a taxa de gravidez, garantindo qualidade de vida entre pacientes obesas com SOP.⁸³

Para os parâmetros nutricionais, utilizamos modelos propostos por Oliveira et al.⁶⁹ para estimar a ingestão energética (IE), eficiência alimentar (EA) e ingestão alimentar voluntária (IVA). A IE, EA alcançaram significância estatística, enquanto a IVA não apresentou em nenhuma nos dias estudados. Entre os animais do grupo SOP verificou aumento significativo na ingestão alimentar, bem como da eficiência alimentar quando comparado ao grupo controle.

Consistentes com os resultados deste estudo, Moran et al.⁸⁴ evidenciaram maior ingestão de energia na dieta das mulheres com SOP. Nesse sentido, mulheres com SOP apresentam saciedade prejudicada e alterações nos hormônios saciedade-apetite⁸⁵, no estudo de Souza et al.⁸⁶ foi observado níveis de adiponectina reduzido em mulheres com SOP do que no grupo controle, além de uma relação adiponectina para leptina significativamente menor.

Outro achado evidencia que uma refeição com baixo índice glicêmico promove melhorias nos hormônios reguladores da saciedade em comparação com uma refeição de alto índice glicêmico em mulheres com SOP, logo, hormônios de saciedade alterados em mulheres com a síndrome investigada podem contribuir para obesidade.⁸⁷

Em contraste, os animais SOP+EX exibiram comportamentos nutricionais diferentes, houve redução significativa tanto da IE e EA no dia 1º, 7º, 14º e 21º dia, está menor ingestão alimentar observada é condizente com o menor ganho do peso corporal nos animais submetidos ao treinamento de natação. Contudo, é sabido que o exercício moderado causa maior liberação de hormônios anorexígenos como leptina e insulina e que estes podem ter sua ação potencializada frente a uma sessão aguda de exercício, promovendo diminuição do apetite e aumento do gasto energético.⁸⁸

Embora a prática de exercício físico promova benefícios já fundamentado na literatura em mulheres com síndrome em relação ao metabolismo, aspecto físico, psicológico, bem como as alterações específico da SOP, a maioria das mulheres com este diagnóstico permanecem sedentárias, portanto, é fundamental estratégias de manejo com mais aceitabilidade e segurança.⁸⁹

Quanto aos parâmetros murinométricos, o IMC e índice de Lee são utilizados como determinante da massa corporal e atuam como preditor do excesso de peso em ratos⁸⁸ Pode-se observar que o exercício físico foi responsável por reduzir significativamente os valores de IMC e do índice de Lee, quando comparado com o grupo SOP+EX e SOP, mesmo efeito provocado pelo exercício em relação ao peso corporal referido anteriormente.

No que se refere aos resultados da composição corporal, água corporal total foi maior no grupo SOP e houve redução no grupo treinado, e maior conteúdo de água extracelular e intracelular no grupo SOP e redução no grupo tratado. Esses dados são discordantes dos achados no estudo de Barrea et al.⁸⁵, no qual observaram valores mais baixos de água corporal total e água intracelular nas mulheres com SOP durante avaliação desses parâmetros e há avaliação limitada em modelos experimentais de SOP.

Quanto, aos resultados da massa magra, observou-se que o grupo SOP apresentou maiores valores que o grupo controle e SOP+EX, consistente com estudos que evidenciaram o aumento da massa magra em indivíduos com SOP.^{90,91,92} Todavia, outros estudos demonstram resultados opostos em mulheres saudáveis e com SOP^{93,94}, o qual atribuíram, em parte, a um prejuízo na qualidade muscular e não na quantidade.

Observamos que o ganho de peso nas ratas com SOP neste estudo parece estar mais relacionado ao aumento da água corporal total e da massa livre de gordura, sendo este último componente resultado de toda a massa magra, incluindo água corporal total, massa muscular e massa óssea. A massa muscular, como componente da massa livre de gordura, pode ter aumentado devido à biodisponibilidade da testosterona causada pela indução da SOP pelo letrozol, que atua impedindo a conversão da testosterona em estradiol.

Segundo Kogure et al.⁹⁵ mulheres com SOP apresentam concentrações elevadas de androgênios, especialmente a testosterona, a mesma possui importantes funcionalidades fisiológicas na composição corporal, influenciando positivamente o aumento de massa magra em mulheres. Além disso, o aumento dos músculos esqueléticos tem sido associado ao aumento da sensibilidade à insulina.⁹¹

Quanto aos dados do percentual de gordura, houve aumento de gordura no grupo SOP e redução significativa no grupo SOP+EX quando submetido a natação. Esses dados corroboram com os achados

de outros estudos, que sugerem adipogênese aumentada em mulheres com a síndrome.^{96,85} O excesso de peso associado ao aumento de gordura corporal piora todas as características clínicas da doença estudada, essas características incluem distúrbios hormonais, ciclos menstruais irregulares, ovulação e fertilidade reduzida. Além disso, o excesso de massa gorda e sua distribuição têm sido fortemente associados à resistência à insulina, intolerância à glicose e aumento dos riscos de doenças crônicas.^{97,98}

Além disso, o tecido adiposo apresenta ação extraglandular de andrógenos, no qual sendo secretado em excesso pode atenuar o hiperandrogenismo. Os adipócitos localizados na região abdominal são mais ativos como células endócrinas em relação aos localizados na região inferior, este último é mais sensível às catecolaminas e menos a insulina, favorecendo uma hiperinsulinemia compensatória com inflamação de baixo grau, mudanças lipídicas, aumento da produção de andrógenos e baixas concentrações de SHGB, provocando a anovulação.⁹⁹

A temperatura corporal foi avaliada usando uma câmera termográfica na região do dorso, onde o tecido marrom se localiza. Nessa perspectiva, o presente estudo revela aumento significativo na temperatura corporal do grupo SOP+EX em relação ao SOP. O tecido adiposo marrom (TAM) possui capacidade termogênica relevante para aumentar o gasto energético, por meio da regulação da função mitocondrial, sendo considerado um alvo promissor para o tratamento de síndromes metabólicas. Estudos revelam que os níveis de tecido adiposo marrom estão reduzidos em mulheres com SOP e que a termogênese desse tecido está inversamente correlacionada com as concentrações de andrógenos.^{14,100}

Segundo o estudo de Yuan et al.¹⁰¹ evidenciaram que o transplante de tecido adiposo marrom em modelos animais regulou significativamente os ciclos menstruais, promoveu homeostase da glicose e melhora a sensibilidade à insulina, reverte a infertilidade e anormalidade metabólica da SOP, bem com aumento do gasto energético. Todavia, o transplante do TAM não é possível para aplicação clínicas atualmente, logo, ativar a crescimento e a atividade do TAM endógeno é uma excelente estratégia no tratamento da SOP.¹⁰²

O TAM em humanos apresenta se não somente em adipócitos marrons clássicos, mas em adipócitos marrons induzíveis, que são fenotipicamente diferentes dos brancos e marrons. Desse modo, o

tecido marrom endógeno pode ser convertido em tecido adiposo branco por um processo de escurecimento, no qual estimula o desenvolvimento de adipócitos bege em branco, reduzindo os efeitos do tecido branco e contribuindo na melhora da saúde metabólica. Portanto, estimular o escurecimento pode ser novos métodos de pesquisa no tratamento da SOP.¹⁰³

Além disso, durante a prática de exercício físico, o calor é resultado do próprio metabolismo, aumentando a temperatura corporal, o corpo humano atua por meio de mecanismos neurais e cardiovasculares para a manutenção da temperatura corporal em torno de 37°C. Observou-se que os animais treinados obtiveram uma temperatura resultante maior do que os animais que não foram treinados, assim como no estudo de Gomes et al.¹⁰⁴, que também verificaram aumento da temperatura corporal de ratos submetidos ao exercício físico.

Em relação à intolerância à glicose, não foi possível observar diferença significativa, a SOP não altera os níveis de glicose em nenhum dos pontos da curva glicêmica. Além disso, SOP+EX não afetou os resultados do teste de intolerância à glicose. Isso pode ser devido às limitações do fenótipo de SOP induzido por letrozol, que aumenta a biodisponibilidade de andrógenos, mas com repercussões metabólicas limitadas.¹⁰⁵

Cerca de 35% das mulheres com SOP apresentam intolerância à glicose, no qual 7,5 a 10% têm Diabetes Mellitus 2 (DM2)¹⁰⁶, sendo incentivado a mudança no estilo de vida saudável por ser considerada uma estratégia efetiva na patologia.¹⁰⁷ Embora haja uma crescente incidência de DM2 em mulheres com SOP em excesso de peso, estudo recente evidenciou que a SOP aumenta o risco de diabetes entre mulheres magras, da qual se faz necessário um acompanhamento com triagem para DM2 a cada 1 a 3 anos em indivíduos com SOP.¹⁰⁸

Quanto ao peso dos tecidos e órgãos, Shi et al.¹⁰⁹ em seu estudo verificaram que o peso ovariano foi menor nos animais SOP em comparação com grupo controle. Os animais SOP apresentaram aumento de folículos císticos consistente com a SOP humana. Além disso, foi evidenciado aumento significativo no volume do tecido adiposo marrom entre o grupo SOP treinado em relação ao SOP. Estudos demonstram redução da atividade do tecido adiposo marrom em modelos animais com a doença¹⁰¹, e que o treinamento de natação aumentou o volume do tecido marrom em camundongos jovens e

velhos treinados, sugerindo que o exercício físico contribuiu para ativação da gordura marrom, promovendo melhora da saúde metabólica geral.¹¹⁰

Como citado anteriormente, a síndrome dos ovários policísticos é um distúrbio que ocasiona efeitos negativos à saúde como a obesidade, hiperglicemia e resistência à insulina, favorecendo o aumento do estresse oxidativo.⁸

No entanto poucos estudos mediram os marcadores de estresse oxidativo no tecido adiposo. Um estudo caso-controle realizado em 2014, avaliou esses parâmetros no tecido adiposo visceral de mulheres SOP, verificaram níveis de superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH) reduzidos e malondialdeído (MDA) aumentado em pacientes com SOP. Além disso, a expressão de dano oxidativo da proteína de nitrotirosina foi aumentada nos pacientes com SOP em comparação com os controles, indicando que o dano oxidativo foi mais grave em pacientes com SOP em comparação com os indivíduos sem SOP.⁴⁹

Logo, o presente estudo observou que os marcadores antioxidante como GSH e a SOD estão reduzidos no tecido adiposo dos animais com SOP, e o exercício moderado foi capaz de aumentar as concentrações de SOD no tecido adiposo marrom.

A atividade da SOD é bem mencionada na síndrome do ovário policístico, o estudo de Li et al.¹¹¹ demonstrou uma redução significativa da atividade da SOD no ovário de animais SOP. Em outro estudo, examinaram a atividade da SOD tanto no soro quanto no fluido folicular (FF) de mulheres com SOP. Eles mostraram uma diminuição significativa da atividade da SOD tanto na média sérica quanto no FF, na SOP comparado ao grupo controle, sugerindo que a atividade sérica da SOD pode ser um parâmetro clínico para determinar o estresse oxidativo sistêmico na SOP.¹¹²

Semelhante aos achados deste estudo, vários estudos também demonstraram redução significativa do GSH em pacientes SOP.^{44,107} Uma metanálise mostrou que os níveis médios de GSH foram 50% mais baixos em mulheres com SOP do que em controles.¹¹³ Resultado semelhante ao estudo de Jamillian et al.¹¹⁴ e Savic-Radojevic et al.¹¹⁵ demonstraram que a GSH foi significativamente reduzida em mulheres com SOP quando comparado ao grupo controle, evidenciando o papel do aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) na depleção de GSH. A glutathione desempenha um papel importante na redução do

estresse oxidativo, promovendo equilíbrio redox, potencializando a desintoxicação metabólica e regulando o sistema imunológico.¹¹⁶

Estudos anteriores indicaram uma produção elevada de EROs e diminuição da capacidade antioxidante nas células ovarianas e leucócitos de paciente com SOP.^{117,118} Logo, mulheres com SOP apresentam uma interrupção na atividade de antioxidantes endógenos enzimáticos e não enzimáticos, isso pode ser causado por uma resistência à insulina frequente na doença estudada, levando ao aumento da liberação de insulina pelas células beta pancreáticas, que por sua vez causa aumento de EROs. Em consequência há um equilíbrio perturbado e aumento do estresse oxidativo.¹⁰⁷

Nesta perspectiva, quando investigado concentrações de nitrito (NOx), mieloperoxidase (MPO) e malondialdeído (MDA) no tecido adiposo marrom e epididimal, foi possível observar aumento desses marcadores oxidantes nos animais com SOP, bem como uma atividade reduzida dos mesmos no grupo SOP treinado, exceto nas concentrações de MPO no tecido epididimal dos animais treinados.

Nossos achados são consistentes com os resultados dos estudos de Krishna et al.¹¹⁹ e Karabulut et al.¹²⁰, que investigaram a relação entre a SOP e o estado de estresse oxidativo medindo o NO em pacientes com SOP e controle, mostrando concentrações mais elevadas de NO em pacientes com SOP em relação a mulheres controle. Enquanto outros estudos encontraram resultados opostos⁵¹, no entanto faltam evidências concretas sobre os mecanismos que modulam os níveis de NO sob a SOP.¹¹⁹

Em relação à MPO, nossos resultados estão de acordo com os de Ma et al.¹²¹, relataram concentrações aumentada de MPO no grupo SOP em comparação ao controle. Consistente com relatos anteriores, Victor et al.¹²² observaram níveis aumentados de MPO em pacientes com SOP. Avaliaram também os níveis de MPO com a presença ou ausência de RI e verificaram que eram significativamente maiores na presença da resistência à insulina. A atividade dessa enzima reflete o número de neutrófilos infiltrados nos tecidos sendo utilizada como marcador de estresse oxidativo. A mesma é liberada de leucócitos ativados em sítios inflamatórios, gerando espécies reativas de oxigênio (EROs).¹²³

No que diz respeito ao nível de MDA na SOP é relatado em vários estudos. Bannigida; Nayak; Vijayaraghavan¹²⁴, determinaram as concentrações de MDA em indivíduos com SOP obesas e não obesas,

evidenciando aumento de MDA nas mulheres com SOP independente da obesidade. Corroborando com achados de Zhang et al.¹²⁵ na qual modelos animais SOP apresentaram níveis aumentados de MDA. Outro estudo, avaliou MDA no tecido adiposo e evidenciaram aumento desse parâmetro em pacientes com SOP, consistente com nossos resultados.¹¹³

O estresse oxidativo tem sido apontado como uma importante relação entre a obesidade e seus principais distúrbios associados. O aumento do tecido adiposo e dos adipócitos estão associados à hipóxia, estresse oxidativo e dano mecânico, logo, o tecido adiposo é considerado uma fonte independente para a geração de estresse oxidativo sistêmico.¹²⁶ A vista disso, a SOP e suas associações metabólicas, podem contribuir para o desenvolvimento do estresse oxidativo, evidenciado no presente estudo.¹²⁷

Sabe-se que o equilíbrio entre os sistemas pró-oxidante e antioxidante é essencial. Então é importante considerar intervenção no estilo de vida uma vez que a mulheres tenha disso diagnosticada com SOP. Nesse contexto, os efeitos do exercício físico estão relacionados a diversos benefícios metabólicos, antioxidantes, antropométricos e reprodutivo na SOP.³⁸ Em mulheres com SOP, um treinamento aeróbico de 12 semanas promoveu aumento da atividade da SOD e capacidade antioxidante total, e diminuiu as concentrações de MDA. Sugerindo que a atividade física é eficaz para melhorar as defesas antioxidantes na SOP.¹²⁸

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, descobrimos que o protocolo de exercício físico moderado foi capaz de melhorar a composição corporal, parâmetros nutricionais e biomarcadores de estresse oxidativo no tecido adiposo marrom e epididimal induzidos pela SOP. O aumento do estresse oxidativo pode causar disfunção ovariana em pacientes com SOP, pode contribuir para anovulação e desempenhar um papel importante na patogênese. Embora os mecanismos subjacentes ainda não tenham sido totalmente elucidados, torna-se evidente que o estresse oxidativo tem uma participação respeitável na patogênese da SOP. Assim, nossos resultados sugerem que o exercício físico possui propriedades protetoras e antioxidante na SOP.

REFERÊNCIAS

1. Spritzer PM, Marchesan LB, Santos BR, Cureau FV, Oppermann K, Reis RMD, Ferriani RA, Weiss R, Meirelles R, Candido AL, Reis FM; Brazilian PCOS Network. Prevalence and characteristics of polycystic ovary syndrome in Brazilian women: protocol for a nation-wide case-control study. *BMJ Open*. 2019 Oct 22;9(10):e029191. doi: 10.1136/bmjopen-2019-029191.
2. Bhide P, Homburg R. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2016 Nov;37:38-45. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.03.004
3. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*. 2013 Dec 18;6:1-13. doi: 10.2147/CLEP.S37559.
4. Ryan GE, Malik S, Mellon PL. Antiandrogen Treatment Ameliorates Reproductive and Metabolic Phenotypes in the Letrozole-Induced Mouse Model of PCOS. *Endocrinology*. 2018 Apr 1;159(4):1734-1747. doi: 10.1210/en.2017-03218.
5. Kauffman AS, Thackray VG, Ryan GE, Tolson KP, Glidewell-Kenney CA, Semaan SJ, Poling MC, Iwata N, Breen KM, Duleba AJ, Stener-Victorin E, Shimasaki S, Webster NJ, Mellon PL. A Novel Letrozole Model Recapitulates Both the Reproductive and Metabolic Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome in Female Mice. *Biol Reprod*. 2015 Sep;93(3):69. doi: 10.1095/biolreprod.115.131631.
6. Moran LJ, Ranasinha S, Zoungas S, McNaughton SA, Brown WJ, Teede HJ. The contribution of diet, physical activity and sedentary behaviour to body mass index in women with and without polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2013 Aug;28(8):2276-83. doi: 10.1093/humrep/det256.
7. Moran LJ, Ranasinha S, Zoungas S, McNaughton SA, Brown WJ, Teede HJ. The contribution of diet, physical activity and sedentary behaviour to body mass index in women with and without

- polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2013 Aug;28(8):2276-83. doi: 10.1093/humrep/det256. Epub 2013 Jun 15. PMID: 23771201.
8. Dubey P, Reddy S, Boyd S, Bracamontes C, Sanchez S, Chattopadhyay M, Dwivedi A. Effect of Nutritional Supplementation on Oxidative Stress and Hormonal and Lipid Profiles in PCOS-Affected Females. *Nutrients.* 2021 Aug 25;13(9):2938. doi: 10.3390/nu13092938.
 9. Khan MJ, Ullah A, Basit S. Base Genética da Síndrome do Ovário Policístico (SOP): Perspectivas Atuais. *Appl Clin Genet.* 2019 24 de dezembro;12:249-260. doi: 10.2147/TACG.S200341.
 10. Oliveira FR, Mamede M, Bizzi MF, Rocha ALL, Ferreira CN, Gomes KB, Cândido AL, Reis FM. Brown adipose tissue activity is reduced in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2019 Nov;181(5):473-480. doi: 10.1530/EJE-19-0505.
 11. Covington JD, Bajpeyi S, Moro C, Tchoukalova YD, Ebenezer PJ, Burk DH, Ravussin E, Redman LM. Potential effects of aerobic exercise on the expression of perilipin 3 in the adipose tissue of women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Eur J Endocrinol.* 2015 Jan;172(1):47-58. doi: 10.1530/EJE-14-0492. Epub 2014 Oct 23.
 12. Moro C, Pasarica M, Elkind-Hirsch K, Redman LM. Aerobic exercise training improves atrial natriuretic peptide and catecholamine-mediated lipolysis in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jul;94(7):2579-86. doi: 10.1210/jc.2009-0051. Epub 2009 Apr 14.
 13. Fenzl A, Kiefer F. Brown adipose tissue and thermogenesis. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation.* 2014;19(1): 25-37. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2014-0022>
 14. Shorakae S, Jona E, de Courten B, Lambert GW, Lambert EA, Phillips SE, Clarke IJ, Teede HJ, Henry BA. Brown adipose

- tissue thermogenesis in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019 Mar;90(3):425-432. doi: 10.1111/cen.13913.
15. Dantas WS, Murai IH, Perandini LA, Azevedo H, Moreira-Filho CA, Camara NO, Roschel H, Gualano B. Acute exercise elicits differential expression of insulin resistance genes in the skeletal muscle of patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2017 May;86(5):688-697. doi: 10.1111/cen.13307.
 16. Mohammadi, M. Estresse Oxidativo e Síndrome dos Ovários Policísticos: Uma Breve. Revisão. *Int J Prev Med*. 2019; 10 (86).
 17. Wu X, Wu H, Sun W, Wang C. Improvement of anti-Müllerian hormone and oxidative stress through regular exercise in Chinese women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)*. 2021 Jun;20(2):339-345. doi: 10.1007/s42000-020-00233-7.
 18. The Rotterdam Eshre/Asrm-Sponsored Pcos Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction*. V.19. N.1 p. 41-47. 2004.
 19. Alves ML, Donne RD, Romano, MR, Romano MA. Síndrome de ovários policísticos (SOP), fisiopatologia e tratamento, uma revisão. *Research, Society and Development*. 2022 Jun; 11(9). DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.32469>.
 20. Taylor SI, Cama A, Accili D, Barbetti F, Quon MJ, de la Luz Sierra M, Suzuki Y, Koller E, Levy-Toledano R, Wertheimer E, et al. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocr Rev*. 1992 Aug;13(3):566-95. doi: 10.1210/edrv-13-3-566.
 21. Stener-Victorin E, Padmanabhan V, Walters KA, Campbell RE, Benrick A, Giacobini P, Dumesic DA, Abbott DH. Animal Models to Understand the Etiology and Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocr Rev*. 2020 Jul 1;41(4):bnaa010. doi: 10.1210/edrv/bnaa010.

22. Dunaif A. Perspectives in Polycystic Ovary Syndrome: From Hair to Eternity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Mar;101(3):759-68. doi: 10.1210/jc.2015-3780. Epub 2016 Feb 23. PMID: 26908109; PMCID: PMC4803161.
23. Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. Rodent models for human polycystic ovary syndrome. *Biol Reprod.* 2012 May 10;86(5):149, 1-12. doi: 10.1095/biolreprod.111.097808.
24. Mannerås L, Cajander S, Holmäng A, Seleskovic Z, Lystig T, Lönn M, Stener-Victorin E. A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology.* 2007 Aug;148(8):3781-91. doi: 10.1210/en.2007-0168. Epub 2007 May 10.
25. Keller J, Mandala M, Casson P, Osol G. Endothelial dysfunction in a rat model of PCOS: evidence of increased vasoconstrictor prostanoid activity. *Endocrinology.* 2011 Dec;152(12):4927-36. doi: 10.1210/en.2011-1424. Epub 2011 Oct 25.
26. McCarthy GF, Brawer JR. Induction of Stein-Leventhal-like polycystic ovaries (PCO) in the rat: a new model for cystic ovarian disease. *Anat Rec.* 1990 Oct;228(2):137-44. doi: 10.1002/ar.1092280205.
27. Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson BM, Holmäng A. Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005 Sep 7;3:44. doi: 10.1186/1477-7827-3-44.
28. Sánchez-Criado JE, Sánchez A, Ruiz A, Gaytán F. Endocrine and morphological features of cystic ovarian condition in antiprogestosterone RU486-treated rats. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1993 Sep;129(3):237-45. doi: 10.1530/acta.0.1290237.
29. Ruiz A, Tébar M, Pérez-Romero A, Rol de Lama MA, Sánchez-Criado JE. Serum levels of GH, IGF-I, LH and ovarian steroids in

- cyclic and RU486-treated rats. *J Endocrinol Invest.* 1997 Nov;20(10):611-5. doi: 10.1007/BF03346918.
30. Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, Demir N. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease. *Arch Med Res.* 2004 Mar-Apr;35(2):103-8. doi: 10.1016/j.arcmed.2003.10.005.
 31. Baravalle C, Salvetti NR, Mira GA, Pezzone N, Ortega HH. Microscopic characterization of follicular structures in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in the rat. *Arch Med Res.* 2006 Oct;37(7):830-9. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.04.006.
 32. McCormack CE. Acute effects of altered photoperiods on the onset of ovulation in gonadotropin-treated immature rats. *Endocrinology.* 1973 Aug. 93(2): 403–410. Doi: <https://doi.org/10.1210/endo-93-2-403>
 33. Garris DR. Effects of estradiol and progesterone on diabetes-associated utero-ovarian atrophy in C57BL/KsJ (db/db) mutant mice. *Anat Rec.* 1989 Dec;225(4):310-7. doi: 10.1002/ar.1092250407.
 34. Risma KA, Clay CM, Nett TM, Wagner T, Yun J, Nilson JH. Targeted overexpression of luteinizing hormone in transgenic mice leads to infertility, polycystic ovaries, and ovarian tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Feb 28;92(5):1322-6. doi: 10.1073/pnas.92.5.1322.
 35. Padmanabhan V, Veiga-Lopez A. Animal models of the polycystic ovary syndrome phenotype. *Steroids.* 2013 Aug;78(8):734-40. doi: 10.1016/j.steroids.2013.05.004.
 36. Maliqueo M, Sun M, Johansson J, Benrick A, Labrie F, Svensson H, Lönn M, Duleba AJ, Stener-Victorin E. Continuous administration of a P450 aromatase inhibitor induces polycystic ovary syndrome with a metabolic and endocrine phenotype in female rats at adult age. *Endocrinology.* 2013 Jan;154(1):434-45. doi: 10.1210/en.2012-1693.

37. Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, Demir N. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease. *Arch Med Res.* 2004 Mar-Apr;35(2):103-8. doi: 10.1016/j.arcmed.2003.10.005.
38. Kite C, Lahart IM, Afzal I, Broom DR, Randeva H, Kyrou I, Brown JE. Exercise, or exercise and diet for the management of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev.* 2019 Feb 12;8(1):51. doi: 10.1186/s13643-019-0962-3.
39. Jo J, Shreif Z, Periwai V. Quantitative dynamics of adipose cells. *Adipocyte.* 2012 Apr 1;1(2):80-88. doi: 10.4161/adip.19705.
40. ALI, A.T. et al. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol.* 2013. 92 (6-7):229-236.
41. Smorlesi A, Frontini A, Giordano A, Cinti S. The adipose organ: white brown adipocyte plasticity and metabolic inflammation. *Obesity Reviews.* 2012. 13(2):83-96. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01039.x>
42. Cohen P, Spiegelman BM. Brown and Beige Fat: Molecular Parts of a Thermogenic Machine. *Diabetes.* 2015 Jul;64(7):2346-51. doi: 10.2337/db15-0318.
43. Mccracken E, Monaghan M, Sreenivasan, S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin Dermatol.* 2018 apr; 36(1):14-20. Doi: 10.3390/biology11040559
44. Zhang J, Bao Y, Zhou X, Zheng L. Polycystic ovary syndrome and mitochondrial dysfunction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2019 Aug 16;17(1):67. doi: 10.1186/s12958-019-0509-4.
45. PAPANIOU, O. et al. V. Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. *Curr Pharm Des.* 2016;22(18):2709-22.
46. Talbott E, Guzick D, Clerici A, Berga S, Detre K, Weimer K, Kuller L. Coronary heart disease risk factors in women with

- polycystic ovary syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995 Jul;15(7):821-6. doi: 10.1161/01.atv.15.7.821.
47. Conti FF, Brito Jde O, Bernardes N, Dias Dda S, Sanches IC, Malfitano C, Llesuy SF, Irigoyen MC, De Angelis K. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014 Dec 11;14:185. doi: 10.1186/1471-2261-14-185.
 48. Pereira AS, Spagnol AR, Luciano, E, Leme JÁ. Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats. *J. Phys. Educ.* 2016 Jan 27(1). Doi:10.4025/jphyseduc.v27i1.2726
 49. Kshetrimayum C, Sharma A, Mishra VV, Kumar S. Polycystic ovarian syndrome: Environmental/occupational, lifestyle factors; an overview. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2019 Nov 28;20(4):255-263. doi: 10.4274/jtgga.galenos.2019.2018.0142.
 50. Nácul AP, Andrade CD, Schwarz P, de Bittencourt PI Jr, Spritzer PM. Nitric oxide and fibrinogen in polycystic ovary syndrome: associations with insulin resistance and obesity. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Aug;133(2):191-6. doi: 10.1016/j.ejogrb.2006.09.009.
 51. Meng C. Nitric oxide (NO) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a meta-analysis. *J Int Med Res.* 2019 Sep;47(9):4083-4094. doi: 10.1177/0300060519864493.
 52. Sulaiman MA, Al-Farsi YM, Al-Khaduri MM, Saleh J, Waly MI. Polycystic ovarian syndrome is linked to increased oxidative stress in Omani women. *Int J Womens Health.* 2018 Nov 28;10:763-771. doi: 10.2147/IJWH.S166461.
 53. Crispim CA, Zalczman I, Dáttilo M, Padilha HG, Edwards B, Waterhouse J, Tufik S, de Mello MT. The influence of sleep and sleep loss upon food intake and metabolism. *Nutr Res Rev.* 2007

- Dec;20(2):195-212. doi: 10.1017/S0954422407810651. PMID: 19079870.
54. Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. Insulin and leptin as adiposity signals. *Recent Prog Horm Res.* 2004;59:267-85. doi: 10.1210/rp.59.1.267.
55. Matos VAF, Souza DC, Santos VOA, Medeiros ÍF, Browne RAV, Nascimento PRP, Marinho CSR, Serquiz AC, Costa EC, Fayh APT. Acute Effects of High-Intensity Interval and Moderate-Intensity Continuous Exercise on GLP-1, Appetite and Energy Intake in Obese Men: A Crossover Trial. *Nutrients.* 2018 Jul 12;10(7):889. doi: 10.3390/nu10070889.
56. Schubert MM, Sabapathy S, Leveritt M, Desbrow B. Acute exercise and hormones related to appetite regulation: a meta-analysis. *Sports Med.* 2014 Mar;44(3):387-403. doi: 10.1007/s40279-013-0120-3.
57. NICLAS, B. *Endurance Exercise and Adipose Tissue.* USA: Oxford University Press. 2002.
58. Randeve HS, Lewandowski KC, Drzewoski J, Brooke-Wavell K, O'Callaghan C, Czupryniak L, Hillhouse EW, Prelevic GM. Exercise decreases plasma total homocysteine in overweight young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Oct;87(10):4496-501. doi: 10.1210/jc.2001-012056.
59. Oliveira, M. et al. Avaliação do efeito do valerato de estradiol no ciclo estral e na histologia da veia poplítea de ratas. *Salusvita* Dez 29(1): 47-56, 2010
60. Mandl, A. M. The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *Journal of Experimental Biology,* Dec 28(1):576-584.
61. Long JA, Evans HM. The estrous cycle in the rat and its associated phenomena. *Memories of University of California,* 1922 [S.l.] 6:1-148.

62. Marcondes FK, Bianchi F J, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz. J. Biol.* 2002 Nov; 62(4):609-614.
63. Aires, M. M. *Fisiologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
64. Jadhav, MS. et al. Antiandrogenic effect of *Symplocos racemosa* Roxb. against letrozole induced polycystic ovary using rat model. *J Coast Life Med* 2015;p. 309-314.
Doi:10.12980/JCLM.1.2013C79
65. Sherafatmanesh S, Ekramzadeh M, Tanideh N, Golmakani MT, Koohpeyma F. The effects of thylakoid-rich spinach extract and aqueous extract of caraway (*Carum carvi* L.) in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome rats. *BMC Complement Med Ther.* 2020 Aug 12;20(1):249. doi: 10.1186/s12906-020-03044-w.
66. Sousa Lima EB, de Oliveira LCS, da Silva Cardoso G, Telles PVN, da Costa Lima L, Reis E Sousa JF, Araújo RPN, de Oliveira AP, Dos Santos RF, Dos Santos AA, da Silva MTB. Moderate-intensity exercise and renin angiotensin system blockade improve the renovascular hypertension (2K1C)-induced gastric dysmotility in rats. *Life Sci.* 2018 Oct 1;210:55-64. doi: 10.1016/j.lfs.2018.08.053.
67. Macedo AG, Krug, AL, Herrera N, Zago AS. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in flexor hallucis longus muscle. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 143:357-364. Doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.05.010
68. Silva MT, Palheta-Junior RC, Sousa DF, Fonseca-Magalhães PA, Okoba W, Campos CP, Oliveira RB, Magalhães PJ, Santos AA. Sodium bicarbonate treatment prevents gastric emptying delay caused by acute exercise in awake rats. *J Appl Physiol* (1985). 2014 May 1;116(9):1133-41. doi: 10.1152/jappphysiol.01242.2013.

69. de Oliveira LCS, Telles PVN, E Sousa JFR, Cavalcante AKM, Wong DVT, Lima-Junior RC, Torres-Leal FL, Dos Santos AA, da Silva MTB. Influence of the physical exercise on decrease in the gastric emptying and alter appetite and food behavior in rats dexamethasone-treatment. *Physiol Behav.* 2019 Oct 1;209:112610. doi: 10.1016/j.physbeh.2019.112610.
70. HU, L. et al. Evaluation of bioimpedance spectroscopy for the measurement of body fluid compartment volumes in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2012;65:75-82.
71. D Avila LSP, de Oliveira KA, de Abreu ES, Vasconcelos RP, Nascimento JF, Bezerra Pontes EO, Rickli S, Coelho de Souza AN, Leal Cardoso JH, Silveira LR, Carneiro EM, de Carvalho DP, Torres Leal FL, de Oliveira AC. Hypoglycaemic effect of resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats is impaired when supplemented in association with leucine. *Int J Food Sci Nutr.* 2020 Aug;71(5):529-539. doi: 10.1080/09637486.2019.1687660.
72. Rafacho A, Giozzet VA, Boschero AC, Bosqueiro JR. Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone-induced insulin resistance. *Pancreas.* 2008 Apr;36(3):284-93. doi: 10.1097/MPA.0b013e31815ba826.
73. Telles PVN, Severo JS, de Oliveira LCS, Reis E Sousa JF, Cavalcante AKM, da Silva ACA, Aguiar Dos Santos A, Tolentino M. Effect of anaerobic resistance training on gastric emptying of solids, nutritional parameters and food behavior in the rats treated with dexamethasone. *Physiol Behav.* 2022 Mar 1;245:113674. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113674.
74. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978 May;86(1):271-8. doi: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.
75. Silva ACA, Severo JS, Dos Santos BLB, Mendes PHM, Nobre LMS, de Oliveira AP, Ferreira FCS, Medeiros JVR, Lima-Junior RC, Havt A, Palheta-Junior RC, Dos Santos AA, Tolentino M. Moderate Physical Exercise Activates ATR₂ Receptors,

- Improving Inflammation and Oxidative Stress in the Duodenum of 2K1C Hypertensive Rats. *Front Physiol.* 2021 Oct 14;12:734038. doi: 10.3389/fphys.2021.734038.
76. OLIVEIRA, K. B. V. et al. P2X7 receptor antagonist improves gastrointestinal disorders in spontaneously hypertensive rats. *Brazilian Journal of Medical and biological Research* 2023; v.56. Doi: 10.1590/1414-431X2023e12569.
77. Silva MS, de Andrade Gomes Y, de Sousa Cavalcante ML, Telles PVN, da Silva ACA, Severo JS, de Oliveira Santos R, Dos Santos BLB, Cavalcante GL, Rocha CHL, Palheta-Junior RC, de Cássia Meneses Oliveira R, Dos Santos RF, Sabino JPJ, Dos Santos AA, Tolentino M. Exercise and pyridostigmine prevents gastric emptying delay and increase blood pressure and cisplatin-induced baroreflex sensitivity in rats. *Life Sci.* 2021 Feb 15;267:118972. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118972.
78. CAO, S. F. et al. Effects of Exercise Intervention on Preventing Letrozole-Exposed Rats From Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod. Sci.* 2017 Mar 24: 456-462. Doi: <https://doi.org/10.1177/1933719116657892>
79. Cena H, Chiovato L, Nappi RE. Obesity, Polycystic Ovary Syndrome, and Infertility: A New Avenue for GLP-1 Receptor Agonists. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Aug 1;105(8):e2695–709. doi: 10.1210/clinem/dgaa285.
80. Lim SS, Hutchison SK, Van Ryswyk E, Norman RJ, Teede HJ, Moran LJ. Lifestyle changes in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Mar 28;3(3):CD007506. doi: 10.1002/14651858.CD007506.pub4.
81. Kim CH, Lee SH. Effectiveness of Lifestyle Modification in Polycystic Ovary Syndrome Patients with Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Life (Basel).* 2022 Feb 18;12(2):308. doi: 10.3390/life12020308.
82. De Sousa SM Dr, Norman RJ Prof. Metabolic syndrome, diet and exercise. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016 Nov;37:140-151. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.01.006. Epub 2016 Feb 10.

83. Gu Y, Zhou G, Zhou F, Wu Q, Ma C, Zhang Y, Ding J, Hua K. Life Modifications and PCOS: Old Story But New Tales. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Apr 13;13:808898. doi: 10.3389/fendo.2022.808898.
84. Moran LJ, Ranasinha S, Zoungas S, McNaughton SA, Brown WJ, Teede HJ. The contribution of diet, physical activity and sedentary behaviour to body mass index in women with and without polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2013 Aug;28(8):2276-83. doi: 10.1093/humrep/det256.
85. Barrea L, Arnone A, Annunziata G, Muscogiuri G, Laudisio D, Salzano C, Pugliese G, Colao A, Savastano S. Adherence to the Mediterranean Diet, Dietary Patterns and Body Composition in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Nutrients*. 2019 Sep 23;11(10):2278. doi: 10.3390/nu11102278.
86. de Souza KP, de Sousa Pedro S, Rocha NN, Marques EB, Scaramello CBV. Leptin administration during lactation leads to different nutritional, biometric, hemodynamic, and cardiac outcomes in prepubertal and adult female Wistar rats. *J Dev Orig Health Dis*. 2021 Dec;12(6):870-875. doi: 10.1017/S2040174420001312.
87. Hoover SE, Gower BA, Cedillo YE, Chandler-Laney PC, Deemer SE, Goss AM. Changes in Ghrelin and Glucagon following a Low Glycemic Load Diet in Women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Apr 23;106(5):e2151-e2161. doi: 10.1210/clinem/dgab028. PMID: 33491091; PMCID: PMC8063255.
88. Nery CS, Pinheiro IL, Muniz GS, Vasconcelos DA, França SP, Nascimento E. Medidas Murinométricas e Eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhada reduzida na lactação e submetidas ou não a natação. *Rev. Bras. Med. Esport*. 2011 Feb 17(1):49-55.
89. Shang Y, Zhou H, Hu M, Feng H. Effect of Diet on Insulin Resistance in Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Oct 1;105(10):dgaa425. doi: 10.1210/clinem/dgaa425.

90. Ezeh U, Pall M, Mathur R, Azziz R. Association of fat to lean mass ratio with metabolic dysfunction in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2014 Jul;29(7):1508-17. doi: 10.1093/humrep/deu096.
91. Srikanthan P, Karlamangla AS. A massa muscular relativa está inversamente associada à resistência à insulina e pré-diabetes. Conclusões da Terceira Pesquisa Nacional de Exames de Saúde e Nutrição. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 9: 2898–2903.
92. HEIJDEN VD, O exercício de força melhora a massa muscular e a sensibilidade à insulina hepática em jovens obesos. *Med Sci Sports Exerc.* 42:1973-1980.
93. Comerford, K. B. et al. Massa magra e resistência à insulina em mulheres com síndrome dos ovários policísticos. *Metabolismo* 2012 61:1256-1260.
94. Kuk, J. L. et al. A massa muscular esquelética de corpo inteiro não está relacionada à tolerância à glicose ou à sensibilidade à insulina em homens e mulheres com sobrepeso e obesidade. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008 33:769-774.
95. Kogure GS, Silva RC, Miranda-Furtado CL, Ribeiro VB, Pedroso DCC, Melo AS, Ferriani RA, Reis RMD. Hyperandrogenism Enhances Muscle Strength After Progressive Resistance Training, Independent of Body Composition, in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Strength Cond Res.* 2018 Sep;32(9):2642-2651. doi: 10.1519/JSC.0000000000002714.
96. Geronikolou S, Bacopoulou F, Chryssanthopoulos S, Cokkinos DV, Chrousos GP. Hypertension Predisposition and Thermoregulation Delays in Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome: A Pilot Study. *Children (Basel).* 2022 Feb 25;9(3):316. doi: 10.3390/children9030316.
97. Aflatounian A, Edwards MC, Rodriguez Paris V, Bertoldo MJ, Desai R, Gilchrist RB, Ledger WL, Handelsman DJ, Walters KA. Androgen signaling pathways driving reproductive and metabolic

- phenotypes in a PCOS mouse model. *J Endocrinol.* 2020 Jun;245(3):381-395. doi: 10.1530/JOE-19-0530.
98. Macut D, Bjekić-Macut J, Rahelić D, Doknić M. Insulin and the polycystic ovary syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017 Aug;130:163-170. doi: 10.1016/j.diabres.2017.06.011. Epub 2017 Jun 12.
99. Paoli A, Mancin L, Giacona MC, Bianco A, Caprio M. Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Transl Med.* 2020 Feb 27;18(1):104. doi: 10.1186/s12967-020-02277-0.
100. Oliveira FR, Mamede M, Bizzi MF, Rocha ALL, Ferreira CN, Gomes KB, Cândido AL, Reis FM. Brown adipose tissue activity is reduced in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2019 Nov;181(5):473-480. doi: 10.1530/EJE-19-0505. PMID: 31491743..
101. Yuan, X. et al. O transplante de tecido adiposo marrom melhora a síndrome dos ovários policísticos. *Proc Natl Acad Sci* 2016 113 (10):2708-2713.
102. Zheng Y, He J, Yang D, Yuan M, Liu S, Dai F, Jia Y, Cheng Y. Irisin reduces the abnormal reproductive and metabolic phenotypes of PCOS by regulating the activity of brown adipose tissue in mice†. *Biol Reprod.* 2022 Oct 11;107(4):1046-1058. doi: 10.1093/biolre/ioac125.
103. Bartelt A, Heeren J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Jan;10(1):24-36. doi: 10.1038/nrendo.2013.204.
104. Gomes LH, Drummont LR, Campos HO, Rezende LM, Carneiro-Júnior MA, Oliveira A, Natali AJ, Prímola-Gomes TN. Thermoregulation in Hypertensive Rats during Exercise: Effects of Physical Training. *Arq. Bras. Cardiol.* 2019; 112(5): 534-542. DOI: 10.5935/abc.20190050
105. Poojary PS, Nayak G, Panchanan G, Rao A, Kundapur SD, Kalthur SG, Mutalik S, Adiga SK, Zhao Y, Bakkum-Gamez J, Chang AY, DeStephano C, Sherman M, Kannan N, Kalthur G.

- Distinctions in PCOS Induced by Letrozole Vs Dehydroepiandrosterone With High-fat Diet in Mouse Model. *Endocrinology*. 2022 Sep 1;163(9):bqac097. doi: 10.1210/endo/bqac097.
106. Osibogun O, Ogunmoroti O, Michos ED. Polycystic ovary syndrome and cardiometabolic risk: Opportunities for cardiovascular disease prevention. *Trends Cardiovasc Med*. 2020 Oct;30(7):399-404. doi: 10.1016/j.tcm.2019.08.010.
107. Szczuko M, Zapalowska-Chwyć M, Drozd R. A Low Glycemic Index Decreases Inflammation by Increasing the Concentration of Uric Acid and the Activity of Glutathione Peroxidase (GPx3) in Patients with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Molecules*. 2019 Apr 17;24(8):1508. doi: 10.3390/molecules24081508.
108. Kakoly NS, Earnest A, Teede HJ, Moran LJ, Joham AE. The Impact of Obesity on the Incidence of Type 2 Diabetes Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care*. 2019 Apr;42(4):560-567. doi: 10.2337/dc18-1738.
109. SHI, D. et al. Um modelo único de roedor de risco cardiometabólico associado à síndrome metabólica e à síndrome dos ovários policísticos. *Endocrinologia* 2009 150 (9): 4425–4436.
110. Lehnig AC, Stanford KI. Exercise-induced adaptations to white and brown adipose tissue. *J Exp Biol*. 2018 Mar 7;221(Pt Suppl 1):jeb161570. doi: 10.1242/jeb.161570.
111. Li T, Zhang T, Gao H, Liu R, Gu M, Yang Y, Cui T, Lu Z, Yin C. Tempol ameliorates polycystic ovary syndrome through attenuating intestinal oxidative stress and modulating of gut microbiota composition-serum metabolites interaction. *Redox Biol*. 2021 May;41:101886. doi: 10.1016/j.redox.2021.101886.
112. Seleem AK, El Refaeey AA, Shaalan D, Sherbiny Y, Badawy A. Superoxide dismutase in polycystic ovary syndrome patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod*

- Genet. 2014 Apr;31(4):499-504. doi: 10.1007/s10815-014-0190-7.
113. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013 May-Jun;19(3):268-88. doi: 10.1093/humupd/dms059.
114. Jamilian M, Mansury S, Bahmani F, Heidar Z, Amirani E, Asemi Z. The effects of probiotic and selenium co-supplementation on parameters of mental health, hormonal profiles, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. *J Ovarian Res*. 2018 Sep 14;11(1):80. doi: 10.1186/s13048-018-0457-1.
115. Savic-Radojevic A, Bozic Antic I, Coric V, Bjekic-Macut J, Radic T, Zarkovic M, Djukic T, Pljesa-Ercegovac M, Panidis D, Katsikis I, Simic T, Macut D. Effect of hyperglycemia and hyperinsulinemia on glutathione peroxidase activity in non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)*. 2015 Jan-Mar;14(1):101-8. doi: 10.14310/horm.2002.1525.
116. Minich DM, Brown BI. A Review of Dietary (Phyto)Nutrients for Glutathione Support. *Nutrients*. 2019 Sep 3;11(9):2073. doi: 10.3390/nu11092073.
117. Bañuls C, Rovira-Llopis S, Martinez de Marañon A, Veses S, Jover A, Gomez M, Rocha M, Hernandez-Mijares A, Victor VM. Metabolic syndrome enhances endoplasmic reticulum, oxidative stress and leukocyte-endothelium interactions in PCOS. *Metabolism*. 2017 Jun;71:153-162. doi: 10.1016/j.metabol.2017.02.012.
118. Lai Q, Xiang W, Li Q, Zhang H, Li Y, Zhu G, Xiong C, Jin L. Oxidative stress in granulosa cells contributes to poor oocyte quality and IVF-ET outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Front Med*. 2018 Oct;12(5):518-524. doi: 10.1007/s11684-017-0575-y.

119. Krishna MB, Joseph A, Thomas PL, Dsilva B, Pillai SM, Laloraya M. Impaired Arginine Metabolism Coupled to a Defective Redox Conduit Contributes to Low Plasma Nitric Oxide in Polycystic Ovary Syndrome. *Cell Physiol Biochem*. 2017;43(5):1880-1892. doi: 10.1159/000484107.
120. Karabulut AB, Cakmak M, Kiran RT, Sahin I. Oxidative stress status, metabolic profile and cardiovascular risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Med-Science* 2012;1(1):7-34.
121. Ma W, Li S, Liu H, Bai H, Liu Q, Hu K, Guan L, Fan P. Myeloperoxidase and CYBA genetic variants in polycystic ovary syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2021 Apr;51(4):e13438. doi: 10.1111/eci.13438.
122. Victor VM, Rovira-Llopis S, Bañuls C, Diaz-Morales N, Martinez de Marañon A, Rios-Navarro C, Alvarez A, Gomez M, Rocha M, Hernández-Mijares A. Insulin Resistance in PCOS Patients Enhances Oxidative Stress and Leukocyte Adhesion: Role of Myeloperoxidase. *PLoS One*. 2016 Mar 23;11(3):e0151960. doi: 10.1371/journal.pone.0151960.
123. Silva MS, de Andrade Gomes Y, de Sousa Cavalcante ML, Telles PVN, da Silva ACA, Severo JS, de Oliveira Santos R, Dos Santos BLB, Cavalcante GL, Rocha CHL, Palheta-Junior RC, de Cássia Meneses Oliveira R, Dos Santos RF, Sabino JPJ, Dos Santos AA, Tolentino M. Exercise and pyridostigmine prevents gastric emptying delay and increase blood pressure and cisplatin-induced baroreflex sensitivity in rats. *Life Sci*. 2021 Feb 15;267:118972. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118972.
124. Bannigida DM, Nayak BS, Vijayaraghavan R. Insulin resistance and oxidative marker in women with PCOS. *Arch Physiol Biochem*. 2020 May;126(2):183-186. doi: 10.1080/13813455.2018.1499120.
125. Zhang Y, Hu M, Jia W, Liu G, Zhang J, Wang B, Li J, Cui P, Li X, Lager S, Sferruzzi-Perri AN, Han Y, Liu S, Wu X, Brännström M, Shao LR, Billig H. Hyperandrogenism and insulin resistance modulate gravid uterine and placental ferroptosis in PCOS-like

- rats. *J Endocrinol*. 2020 Sep;246(3):247-263. doi: 10.1530/JOE-20-0155.
126. Perri A, Lofaro D, LA Russa A, Lupinacci S, Toteda G, Curti A, Urso A, Bonofiglio R, LA Russa D, Pellegrino D, Brunetti A, Greco E. Proinflammatory profile of visceral adipose tissue and oxidative stress in severe obese patients carrying the variant rs4612666 C of NLRP3 gene. *Minerva Endocrinol (Torino)*. 2021 Sep;46(3):309-316. doi: 10.23736/S2724-6507.21.03460-X.
127. Demir B, Cengiz H, Ungan I, Gedikbasi A, Karakoç G, Demir E, Demir N. The relationship between epicardial adipose tissue thickness and oxidative stress parameters in patients with isolated polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2015 Jul;31(7):531-5. doi: 10.3109/09513590.2015.1018160.
128. Wu X, Wu H, Sun W, Wang C. Improvement of anti-Müllerian hormone and oxidative stress through regular exercise in Chinese women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)*. 2021 Jun;20(2):339-345. doi: 10.1007/s42000-020-00233-7. Epub 2020 Jul 28.

ANEXO

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
 Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64049-550
 Telefone (86) 3215-5734_e-mail: ceaeapi@ufpi.edu.br




CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Efeito do exercício físico e da estimulação dos receptores TRPV1 via capsaicina sobre a motilidade gastrointestinal de ratas com síndrome de ovário policístico*", registrada nº 599/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA do Programa de Pós-graduação em Farmacologia e Alimentos e Nutrição/CCS/UFPI que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica, 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 de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **01/11/2019**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Dezembro/2019 à Dezembro/2022
Espécie/Linhagem/raça	Rato heterogênico/ wistar
Nº de Animais	450
Peso/ Idade	100-150g/ recém-nascida
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério Central da UFPI.
Local de alojamento dos animais durante o experimento	Biotério do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais/CCS/UFPI
Grau de Invasividade	2

Teresina, 06 de Novembro de 2019.


 Prof.^a Ivete L. de Mendonça
 Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora



Physical exercise alleviates oxidative stress in brown adipose tissue and causes changes in body composition and nutritional behavior in rats with polycystic ovary syndrome

Wenna Lúcia Lima Santos^{a, b}, Clailson da Silva Pinheiro^{b, c}, Raisia de Oliveira Santos^a, Alda Cassia Alves da Silva^{b, c}, Juliana Soares Severo^{a, b}, Pedro Henrique Moraes Mendes^b, Luiza Carolinda de Sousa^b, Olga Maria Castro de Sousa^b, Brenda Lois Barros dos Santos^d, Kelly Beatriz Vieira de Oliveira^c, António Klingem Freitas^e, Francisco Leonardo Torres-Leal^a, Armênio Aguiar dos Santos^e, Moises Tolentino Bento da Silva^{a, b, c, f, *}

^a Graduate Program in Food and Nutrition, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil

^b Laboratory of Exercise and Gastrointestinal Tract – Department of Physical Education, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil

^c Graduate Program in Pharmacology, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil

^d Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Piauí, Teresina, PI, Brazil

^e Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

^f Laboratory of Physiology. Department of Immuno-Physiology and Pharmacology. Institute of the Biomedical Science Abel Salazar – ICBAS, Center for Drug Discovery and Innovative Medicines (MedInUP), University of Porto, Porto, Portugal

ARTICLE INFO

Keywords:

Exercise
Brown adipose tissue
Nutritional behavior
PCOS

ABSTRACT

Aim: Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is a very common endocrine disorder in women. We investigate the effect of physical exercise on body composition, nutritional parameters, and oxidative stress in rats with PCOS.

Methods: Female rats were into three groups: Control, PCOS, and PCOS + Exercise. PCOS was induced by letrozole (1 mg/kg via p.o.) for 21 days consecutively. Physical exercise was swimming, for 21 consecutive days, 1 h/day with 5 % load. In all groups, we assessed the nutritional and murinometric parameters, body composition, thermography, and oxidative stress in brown adipose tissue (BAT) and peri-ovarian adipose tissue (POAT).

Key findings: In PCOS we observed an increase ($P < 0.05$) in body weight vs. the Control group. But, the PCOS + Exercise group prevent this weight gain ($P < 0.05$). The temperature in BAT, decrease ($P < 0.05$) in the PCOS group vs. Control group. PCOS + Exercise prevented this reduction ($P < 0.05$) in BAT temperature vs. PCOS groups. We observed decreases ($P < 0.05$) in Lee Index and BMI in POS + Exercise vs. PCOS group. In PCOS rats, we observed an increase ($P < 0.05$) in murinometric (SRWG, EI, and FE) and body composition parameters (TWB, ECF, ICF, and FFM) vs. the Control group. The PCOS + Exercise prevents ($P < 0.05$) these changes in all groups, compared with PCOS. Regarding the BAT, we observe an increase ($P < 0.05$) in MPO and MDA levels in the PCOS vs. Control group. PCOS + Exercise prevents ($P < 0.05$) these increases vs. the PCOS group.

Significance: PCOS modifies body composition, and nutritional parameters, and induces changes in oxidative stress in BAT. Physical exercise prevented these alterations.

1. Introduction

Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS) is a very common endocrine disorder in women of reproductive age, affecting about 5 to 15 % of the population to varying degrees [1]. This syndrome results in steroidoge-

nesis alteration, characterized by hyperandrogenism, ovulatory dysfunction, and the presence of polycystic ovaries. It also often causes reproductive and metabolic complications, including changes in adipose tissue, insulin resistance, dyslipidemia, and type 2 diabetes [2].

* Corresponding author at: Laboratory of Physiology, Department of Immuno-Physiology and Pharmacology, Institute of the Biomedical Science Abel Salazar, School of Medicine and Biomedical Sciences, Center for Drug Discovery and Innovative Medicines (MedInUP), University of Porto, Porto, Portugal.

E-mail address: mtsilva@icbas.up.pt (M.T.B. da Silva).

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121754>

Received 6 March 2023; Received in revised form 28 April 2023; Accepted 2 May 2023

0024-3205/© 20XX

Several animal models of PCOS have been developed such as the administration of the estradiol valerate [3,4], testosterone [5], dihydrotestosterone [6], dehydroepiandrosterone (DHEA) [7], and letrozole [8] to simulate the main symptoms of this syndrome. In this sense, letrozole is an aromatase inhibitor that increased testosterone and luteinizing hormone, polycystic ovaries, weight gain, and irregular timing of cycles [9].

Various scientific evidence demonstrates that the objective of treatment of PCOS is not restricted to addressing reproductive repercussions, but should also be aimed at preventing weight gain, oxidative stress, reducing lean mass, and abdominal obesity [10,11]. In this sense, some non-pharmacological approaches should be incorporated to alleviate the effects of PCOS. Thus, the regular practice of physical exercise is an important tool to improve some symptoms caused by PCOS [12]. According to Oliveira et al. [13], skeletal muscle is recognized as an organ with an endocrine function by producing cytokines and various peptides known as myokines [10]. Covington et al. [14] and Moro et al. [15] both found that chronic aerobic exercise, acting through the regulation of guanylyl triphosphatase GTPases, perilipin 3 *PLIN3*, catecholamine, and the atrial natriuretic peptide was sufficient to improve lipolysis activity, which is reduced in PCOS patients.

Still, regarding the effects of exercise on adipose tissue, it is known that brown adipose tissue has an important thermogenic function [16]. However, this thermogenic factor of brown adipose tissue is lower in women with PCOS [17]. Dantas et al. [18] observed that an acute session of aerobic exercise was able to promote an increase in the activity of UCP1 (uncoupling protein 1), a protein present in brown adipose tissue responsible for mediating the process of thermogenesis in the required tissue.

Regarding oxidative stress, it is recognized as playing a central role in the pathophysiology of many diseases, including PCOS [19]. Wu et al. [20] observed that chronic physical exercise for 12 weeks promoted improvement in oxidative stress biomarker factors such as malondialdehyde, superoxide dismutase, and total antioxidant capacity. Given the above, we hypothesized that physical exercise can be a tool in the prevention and/or treatment of the symptoms caused by PCOS, in terms of damage to body composition, oxidative stress, and body temperature control in female rats with induced PCOS.

2. Methods

2.1. Animals and ethical approval

Female Wistar rats weighing 190–220 g, ($n = 8–10/\text{group}$) were provided by Federal University of Piauí, Brazil. All experiments were conducted according to the “3R” principles. The animals were housed

in collective cages with access to water and food consumption monitored during the protocol days, with controlled temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), and a 12/12 h light/dark cycle. All procedures were performed according to the recommendations of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (US National Institutes of Health, 1996) after approval by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of the Federal University of Piauí (Protocol 519/19). Rats were randomly allocated to Control, PCOS, and PCOS + Exercise groups. Fig. 1 shows the experimental design of this study.

2.2. Induction of polycystic ovarian syndrome (PCOS)

The PCOS was induced according to the method described by [21, 22]. For this purpose, the female rats received letrozole (1 mg/kg, i.p) for 21 consecutive days. The control rats were treated only with the vehicle for the same period. Before the beginning of the treatments and in the final 8 days, the estrous cycle was studied to confirm the normal estrous cycle and the development of PCOS, supplementary materials (S1). All rats that were in Diestrus in the final of the treatment were included in the groups. The rats that were not in Diestrus for the 8 consecutively days in the final of the treatment, were excluded from the study.

2.3. Exercise training protocol

The exercise protocol was adapted from Lima et al. [23] and Silva et al. [24]. Initially, all rats underwent a period of adaptation to the liquid medium before training. Physical training was started simultaneously with letrozole or control treatment on day 0. The exercise was performed in collective tanks (100 cm long \times 80 cm wide \times 80 cm high) with a maximum of 4 rats and a water depth of 50 cm, kept at a temperature of approximately $30 \pm 2^\circ\text{C}$. The protocol of the physical exercise consisted of swimming (1 h/day for 21 days consecutively) with an overload of 5 % body weight attached to the tail. This protocol consists of moderate-intensity physical exercise. The sedentary rats were submitted to contact with shallow water without the need for any physical effort to eliminate stress bias caused by water contact.

2.4. Food intake behavior assessment

The food intake behavior was evaluated 1, 7, 14, and 21 days before starting the protocol for euthanasia. The animals were placed in individual cages, and the daily monitoring of food and water intake was performed between 9:00 and 10:00 AM. Each rat had free access to filtered water and 40.0 g of standard pellet feed (Presence Rats and Mice® - Agribands Purina do Brazil Ltda), and the amount consumed over a 24-h interval was quantified [21]. Considering the centesimal

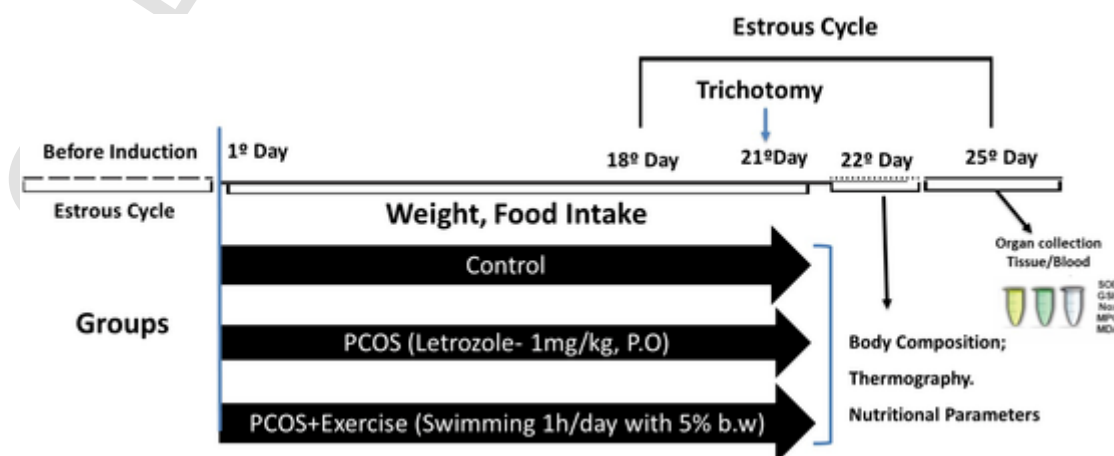


Fig. 1. Experimental design.

composition of the feed as 380 kcal/100 g of feed, 63.0 g of carbohydrate/100 g of feed, 23.0 g of protein/100 g of feed, and 4.0 g of lipid/100 g of feed, the following nutritional indices were calculated [22]:

1. Energy intake (EI, kcal/day) = mean food consumption (g) × dietary metabolizable energy (kcal);
2. Food efficiency (FE, %) = (mean body weight gain (g) × 100)/energy intake (kcal/day).
3. Voluntary food intake (VFI, %) = (mean food consumption × 100)/mean body weight.

2.5. Murinometric parameters and body weight

The individual rat body weight (g) and length (cm) were measured daily and quantified at 1, 7, 14, and 21 days after the beginning of the protocol until the euthanasia date, enabling the determination of the following murinometric indices: Body Mass Index (g/cm²), Lee Index (g/cm), and Specific Rate of Body Mass Gain (g/kg), according to Telles et al. [25].

2.6. Body composition assessment

To assess body composition, the bioimpedance spectroscopy (BIS) method (ImpediMED®, Australia/New Zealand) was employed, according to a previous report by Cavalcante [26]. At the end of treatment and/or exercise (21 days), the rats were anesthetized with a mixture of ketamine (100 mg/kg i.m.) and xylazine (10 mg/kg, i.m) according to [24,27,2818; 21, 26], and placed in a supine position on a flat surface for the insertion of four electrodes via hypodermic needles (two in the head and two in the tail). The electrodes were then connected to the BIS device to assess fat mass (FM; in g or percentage), fat-free mass (FFM; in g or percentage), total body water (TBW; in mL or percentage), extracellular fluid (ECF; in mL or percentage), intracellular fluid (ICF; in mL or percentage), and body mass index (BMI; in g/cm²).

2.7. Intraperitoneal glucose tolerance test (IpGTT)

To evaluate the metabolic effect of PCOS, the protocol described by Giozset et al. [27]. was used. After the last treatment, all of the rats were maintained individually in metabolic cages and fasted for 14 h with free access to normal water. Afterward, the animals were subjected to the intraperitoneal glucose tolerance test, according to Giozset et al. [27]. A basal blood sample (20.0 µL) was obtained from the rats' tails (time 0). Next, they received an intraperitoneal injection of 50 % glucose (2.0 g/kg), and further blood samples were collected at 15, 30, 60, 90, and 120 min from the tail tip. The glucose concentration was determined using a glucometer (Accucheck Active®, Roche).

2.8. Infrared thermography assessment

Thermography assessment was performed according to [28–30]. On day 21, all animals underwent a dorsal trichotomy in the brown adipose tissue region for subsequent thermographic analysis. Twenty-four hours later, the rats were placed in individual boxes with free access to the same feed and water to avoid stress. After a baseline period in which the rats were acclimatized, images were taken of the back region, where the brown adipose tissue is located, using a FLIR tools C2 infrared digital thermographic camera. The images were later analyzed using the FLIR Tools™ software. For quantification, the average of four images of each rat was used.

2.9. Malondialdehyde (MDA) assessment

Brown and white adipose tissue samples were homogenized in a cold 1.15 % KCl solution (1 ml/100 mg of tissue). Briefly, 250 µl of

each homogenate was added to 1 % phosphoric acid (H₃PO₄) and 0.6 % thiobarbituric acid (aqueous solution). Then, this mixture was stirred and heated in a boiling water bath for 45 min. Next, it was immediately cooled in an ice-water bath followed by the addition of 4 ml of n-butanol. This mixture was stirred, and the butanol layer was separated by centrifugation at 1200 rpm for 15 min. The optical density was determined at both 535 and 520 nm, and the difference in optical density values was considered the thiobarbituric acid value. Results are expressed in nanomoles per milligram of tissue (nmol/mg tissue) [31].

2.10. Myeloperoxidase (MPO) analysis

Briefly, the brown and white adipose tissues were homogenized in potassium buffer with 0.5 % hexyl trimethylammonium (HTAB) (1 ml/100 mg of tissue). Then, the homogenate was centrifuged at 4500 rpm for 20 min. MPO activity in the resuspended pellet was evaluated by measuring the change in absorbance at 450 nm using o-dianisidine dihydrochloride and 1 % hydrogen peroxide. The results were expressed as units of MPO per mg of tissue (UMPO/mg of tissue) [32].

2.11. Glutathione (GSH) analysis

The concentration of GSH in the brown and peri-ovarian adipose tissue samples was analyzed according to the method described by [32]. GSH analysis is based on the determination of non-protein sulfhydryl groups (NPSH). Samples between 50 and 100 mg of the animals' adipose tissue were homogenized at a concentration of 1 ml of 0.02 M EDTA for each 100 mg of tissue. Aliquots of 400 µL of the homogenate were mixed in 320 µL of distilled water, and 80 µL of 50 % trichloroacetic acid (TCA) was added for protein precipitation to occur. Tubes containing the material were centrifuged for 15 min at 3000 rpm/4 °C. Then 400 µL of the supernatant was added to 800 µL of 0.4 M Tris buffer (pH 8.9) and 20 µL of dithiol-nitrobenzoic acid (DTNB, or Ellman's reagent). Next, the mixture was stirred for 3 min and its absorbance was read by a spectrophotometer at 412 nm. The concentrations of the NPSH are expressed in mg NPSH/mg tissue.

2.12. Nitrite/nitrate (NO_x) evaluation

The production of nitric oxide in the brown and white adipose tissue of the animals was indirectly evaluated by quantifying the levels of nitrate (NO₃⁻) and nitrite (NO₂⁻) (collectively referred to as NO_x), using the Griess assay. The samples were macerated in a potassium chloride solution (KCl, 0.15 M) and the homogenate was centrifuged under refrigeration. Then, the supernatant (100 µL) was mixed with Griess' reagent (100 µ) (phosphoric acid, sulfanilamide, and N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride). After 10 min, the absorbance of the samples was measured at 540 nm Results are expressed as micromoles of NO_x [33].

2.13. Superoxide dismutase (SOD) levels

Using brown and white adipose tissue samples, a 10 % homogenate was prepared and centrifuged at 3000 rpm for 15 min at 4 °C. Subsequently, each sample was added to a solution of phosphate, L-methionine (20 mM), Triton X-100 (1 % v/v), hydroxylamine chloride (10 mM) and EDTA (50 µM). The tubes were placed in a water bath at 37 °C for 5 min. Riboflavin (50 µM) was added, and all measurements were corrected in a white lightbox for 10 min. The solution was then transferred to an ELISA plate, followed by the addition of the Griess reagent. This was performed in an ELISA reader at 550 nm. The value of the SOD unit (USOD/µg tissue) was calculated [32].

2.14. Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was employed to assess data normality, and the results of each group ($n = 8$ – 10 rats) were expressed as the mean \pm SEM. Then, for comparison between the groups, a one-way analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by the Tukey test. To assess the weight curve, we used three-way ANOVA, followed by the Tukey test (Fig. 2A). The difference was considered significant if the P -value was $P < 0.05$, adopting a 95 % confidence interval.

3. Results

3.1. Assessment of body weight in control, PCOS, and PCOS + Exercise rats

In Fig. 2A we show the results of the body weight in the Control, PCOS, and PCOS + Exercise groups, during the 21 consecutive days of treatment and/or physical exercise. There was a significant increase ($P < 0.05$) in body weight gain in the PCOS group compared to the Control group on the 14th day (239.50 ± 3.74 g vs. 225.80 ± 3.07 g) and 21st day (237.10 ± 4.35 g vs. 223.80 ± 2.95 g). There was a significant reduction ($P < 0.05$) in body weight gain in the PCOS + Exercise group compared to PCOS on the 14th and 21st days (223.70 ± 3.36 vs. 236.90 ± 3.53 and, $224, 70 \pm 3.94$ vs. 237.10 ± 4.35). Fig. 2B shows the results of the body weight gain delta of the rats in the Control, PCOS, and PCOS + Exercise groups. There

was a significant increase ($P < 0.05$) in body weight gain in the PCOS group compared to the Control group (28.38 ± 4.66 vs. 15.36 ± 2.04 g). Exercise significantly prevented ($P < 0.05$) weight gain relative to PCOS (11.85 ± 2.04 vs. 28.38 ± 4.66 g).

3.2. Assessment of infrared thermography in control, PCOS, and, PCOS + Exercise rats

Fig. 3(A and B) depicts the qualitative and quantitative results of the thermography assessment in the Control, PCOS, and PCOS + Exercise groups. The PCOS group had a lower temperature ($P < 0.05$) in the BAT compared with the Control rats (37.14 ± 0.08 vs. 36.69 ± 0.10 °C). On the other hand, PCOS + Exercise did not have this decrease ($P < 0.05$) compared with the PCOS rats (36.69 ± 0.10 vs. 37.08 ± 0.09 °C).

3.3. Assessment of the murinometric and nutritional parameters in the control, PCOS, and, PCOS + Exercise rats

Table 1 shows the results of the murinometric and nutritional parameters in the Control, PCOS, and PCOS + Exercise rats. Table 1-A indicates a reduction ($P < 0.05$) in Lee Index and BMI in PCOS + Exercise rats compared with the PCOS group. Table 1-B reports an increase in the PCOS group ($P < 0.05$) in the SRWG at 7, 14, and 21 days compared to the Control rats. However, these increases did not occur in the PCOS + Exercise group ($P < 0.05$) at 7, 14, and 21 days compared with PCOS rats.

Table 1-C and D show significant increases ($P < 0.05$) in the energetic intake and feed efficiency in PCOS rats at 1, 7, 14, and 21 days compared with the Control rats. Moreover, we observed a significant prevention ($P < 0.05$) in the increase in energetic intake and feed efficiency in the PCOS + Exercise group compared to the PCOS group. In the voluntary food intake, we did not observe differences among all three groups.

3.4. Assessment of the body composition and tissue or organ weight in the control, PCOS, and, PCOS + Exercise rats

Table 2 shows the results of the body composition and tissue or organ weight in the Control, PCOS, and PCOS + Exercise rats. Table 2-A indicates a significant increase ($P < 0.05$) in the TBW, ECF, ICF, and FFM in PCOS compared with Control rats. In the rats of the PCOS + Exercise group, there was the prevention of an increase ($P < 0.05$) compared to the PCOS rats. On the other hand, we observed a significant decrease ($P < 0.05$) in the FM in PCOS rats compared with the Control rats. The PCOS + Exercise did not have this decrease ($P < 0.05$). Table 2-B indicates a significant decrease ($P < 0.05$) in the weight of the retroperitoneal and peri-ovarian adipose tissue and uterus in the PCOS rats compared with the Control group. The PCOS group also had higher ovary weight ($P < 0.05$) in comparison with the Control group. Furthermore, we observed a significant increase ($P < 0.05$) in BAT, gastrocnemius, and uterus weight of the PCOS + Exercise compared with the PCOS rats.

3.5. Assessment of the oxidative stress in brown and peri-ovarian adipose tissue in the control, PCOS, PCOS + Exercise rats

Table 3 shows data on antioxidant markers and oxidative stress in brown and peri-ovarian adipose tissue in the studied groups. No difference was observed for GSH in BAT. The PCOS group showed increased ($P < 0.05$) MDA concentrations and MPO activity in BAT compared to the Control group. There was a significant increase ($P < 0.05$) in SOD activity in BAT in the PCOS + Exercise group compared to the PCOS group. Also, the PCOS + Exercise group had

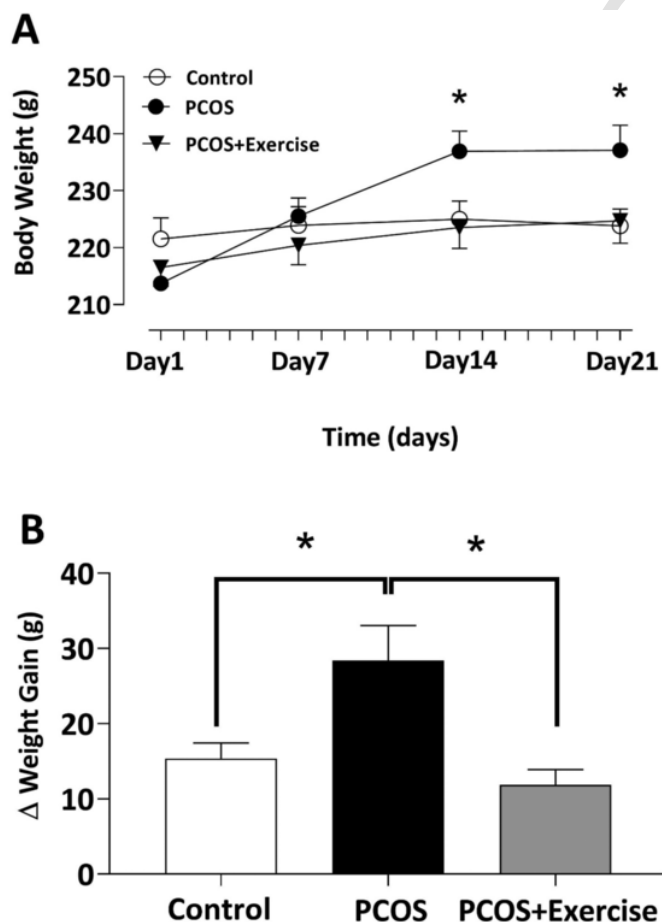


Fig. 2. Body weight curve (A) and delta of body weight gain (B) of control ($n = 8$), PCOS ($n = 10$), and PCOS + Exercise ($n = 10$) rats, during 21 days of treatment and/or training. Data are expressed as mean \pm (SEM) and were statistically analyzed using the three-way (A) or one-way (B) ANOVA test, followed by the Tukey test. Significance: * $P < 0.05$.

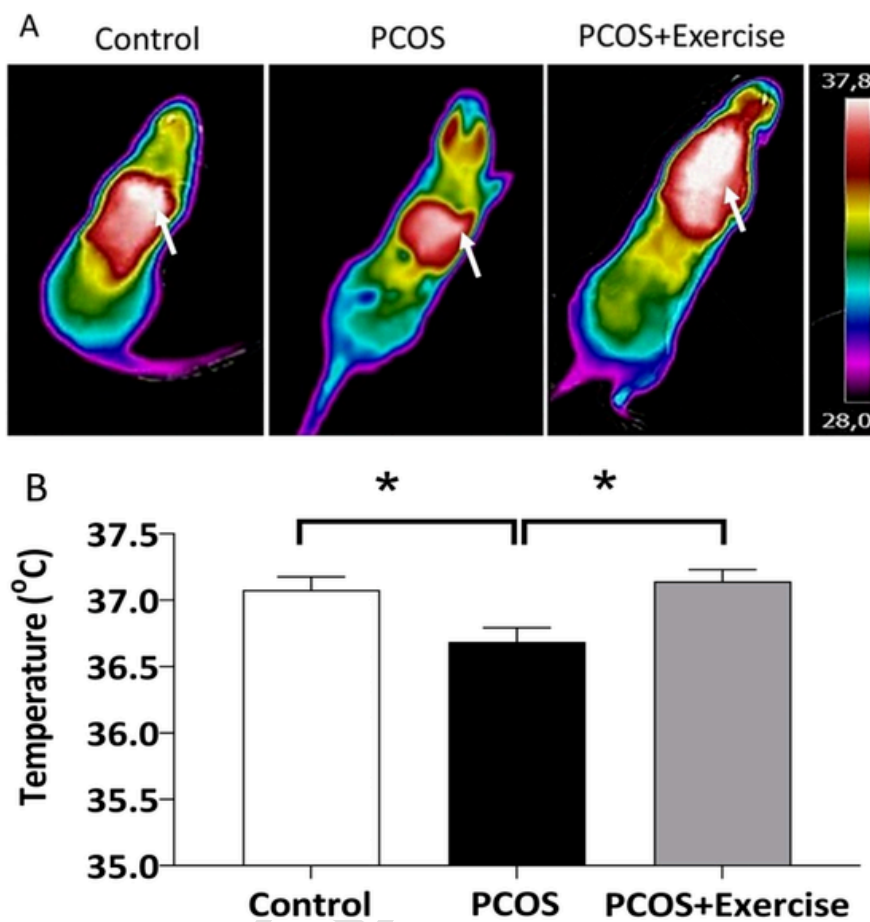


Fig. 3. Thermographic images (A) and body temperature profile (B) in control (n = 8), PCOS (n = 10), and PCOS + Exercise (n = 10) rats. Data are expressed as mean \pm (SEM) and were statistically analyzed using the one-way ANOVA test, followed by Tukey's test. Significance: *P < 0.05.

diminished values ($P < 0.05$) of Nox and MDA concentrations, and MPO activity in BAT compared to the PCOS group.

In the peri-ovarian adipose tissue, we observed reduced concentrations of GSH and SOD activity ($P < 0.05$) in the PCOS group compared to the Control rats. Moreover, the animals in the PCOS group showed decreased ($P < 0.05$) concentrations of Nox and increased ($P < 0.05$) concentrations of MDA compared to the Control group. In the PCOS + Exercise group, the animals had lower Nox and MDA concentrations ($P < 0.05$).

3.6. Assessment of the IpGTT in the control, PCOS, and, PCOS + Exercise rats

In Fig. 4, we did not observe differences between any groups control, PCOS, or PCOS + Exercise in the intraperitoneal glucose tolerance test.

4. Discussion

In this study, we used an animal model with the use of letrozole to induce an ovarian cystic disease phenotype, showing that letrozole-induced female rats with PCOS were steadily in the diestrus phase, confirming the model's efficiency (S1). The same pattern was observed in the study by Ryan, Malik, and Mellon [34].

Animals in the PCOS group showed a significant increase in body weight and SRWG over the 21 days compared to the Control group, more specifically from the seventh day onward, an expected result due to the symptomatology of the disease, which includes weight gain, consistent with the results obtained by Zhang et al. [35]. The excess andro-

gen in PCOS favors abdominal adipose tissue deposition and visceral adiposity caused by insulin resistance and compensatory hyperinsulinism [36].

Physical exercise can be classified as acute or chronic, as well as low, moderate, or high intensity. In addition, it may also involve aerobic or anaerobic metabolic pathways. In animal models, study protocols can be on a treadmill, varying the intensity through inclination, time, or speed [37,38]. In addition, swimming exercises can be performed with or without overload. In our study, we used the swimming protocol with 5 % of body weight already used in our laboratory and which can be characterized as being of moderate intensity [39,40]. Our findings showed that the intervention with moderate physical exercise caused a significant decrease in body weight and SRWG in rats with PCOS (PCOS + Exercise). Similar results were found by Cao et al. [41], who observed a weight reduction in PCOS models when subjected to moderate-intensity swimming. Several studies have shown that physical exercise is a primary therapy in women with PCOS, with beneficial effects in reducing weight gain and insulin sensitivity and improving the spontaneous or induced ovulation ratio [41–43].

Concerning IpGTT, PCOS did not alter glucose levels at any of the glycemic curve points. Also, there was no change in the IpGTT results in the PCOS + Exercise group. This can be due to the limitations of the letrozole-induced phenotype of PCOS, which raises androgen bioavailability, but with limited metabolic repercussions [44].

Regarding murinometric parameters, there was no alteration in BMI and Lee index in the PCOS group in comparison with the Control group. These parameters were used as a predictor of weight gain in rats; the Lee index is an indicator of obesity developed specifically for rats [25,

Table 1

Effects of physical exercise on murinometric and nutritional parameters in control ($n = 10$), PCOS ($n = 10$), and PCOS + Exercise ($n = 10$) rats. Data are expressed as mean \pm SEM and were statistically analyzed by one-way ANOVA, followed by the Tukey test. * $P < 0.05$ - Ctrl vs. PCOS; # $P < 0.05$, PCOS + Exercise vs. PCOS.

	Control	PCOS	PCOS + Exercise
(A) Murinometric parameters			
BMI (g/cm ²)	0.461 \pm 0.009	0.470 \pm 0.015	0.422 \pm 0.008#
Lee Index (g/cm)	0.273 \pm 0.002	0.276 \pm 0.003	0.264 \pm 0.002#
(B) SRWG (g/kg)			
Day 1	15.69 \pm 2.08	32.09 \pm 9.51	11.17 \pm 1.22#
Day 7	46.24 \pm 6.01	85.14 \pm 14.36*	34.78 \pm 6.39#
Day 14	43.03 \pm 6.43	171.7 \pm 13.83*	59.19 \pm 9.64#
Day 21	66.39 \pm 8.17	165.70 \pm 28.44*	50.17 \pm 10.78#
Nutritional parameters			
(C) EI (kcal/dia)			
Day 1	54.58 \pm 2.39	65.23 \pm 4.10*	53.80 \pm 2.14#
Day 7	53.56 \pm 1.81	55.10 \pm 2.68*	54.11 \pm 1.61#
Day 14	44.71 \pm 2.29	64.02 \pm 4.01*	55.29 \pm 1.49#
Day 21	57.48 \pm 2.10	64.08 \pm 3.42*	57.32 \pm 2.32#
(D) FE (%)			
Day 1	5.76 \pm 0.68	12.23 \pm 3.08*	4.62 \pm 0.70#
Day 7	14.00 \pm 2.64	51.21 \pm 8.90*	9.38 \pm 1.43#
Day 14	13.79 \pm 2.22	47.73 \pm 4.63*	19.93 \pm 2.42#
Day 21	23.94 \pm 2.59	56.13 \pm 4.48*	20.98 \pm 3.99#
(E) VFI (%)			
Day 1	6.57 \pm 0.328	6.46 \pm 0.470	7.28 \pm 0.259
Day 7	6.45 \pm 0.228	6.59 \pm 0.374	6.63 \pm 0.191
Day 14	6.13 \pm 0.331	6.49 \pm 0.472	6.61 \pm 0.213
Day 21	7.19 \pm 0.338	6.82 \pm 0.496	6.57 \pm 0.470

Body mass index (BMI); specific rate of weight gain (SRWG); Energy intake (EI); feed efficiency (FE); voluntary food intake (VFI). Significance: *PCOS vs Control, $P < 0.05$; #PCOS + Exercise vs PCOS, $P < 0.05$.

Table 2

Effects of moderate exercise on body composition (bioimpedance spectroscopy) and tissue and organ weight in control ($n = 8$), PCOS ($n = 8$), and PCOS + Exercise ($n = 8$) rats. Data are expressed as mean \pm SEM and were statistically analyzed by one-way ANOVA, followed by the Tukey test. Significance: $P < 0.05$. * $P < 0.05$ - Ctrl vs. PCOS; # $P < 0.05$, PCOS + Exercise vs. PCOS.

	Control	PCOS	PCOS + Exercise
(A) Body composition			
TBW (ml)	102.0 \pm 2.32	120.0 \pm 3.07*	103.1 \pm 3.60#
ECF (ml)	46.57 \pm 0.84	51.33 \pm 1.13*	46.76 \pm 1.12#
ICF (ml)	54.99 \pm 1.66	69.61 \pm 1.92*	60.40 \pm 2.55#
FFM (g)	137.80 \pm 3.10	164.50 \pm 4.20*	142.80 \pm 4.92#
FM (g)	82.39 \pm 3.15	70.23 \pm 2.88*	59.59 \pm 1.91#
(B) Tissues and organs (g/100 g)			
Retroperitoneal	1.66 \pm 0.349	0.80 \pm 0.132*	0.67 \pm 0.126
POAT	1.57 \pm 0.301	0.94 \pm 0.150*	1.12 \pm 0.082
BAT	0.08 \pm 0.013	0.07 \pm 0.007	0.24 \pm 0.032#
Gastrocnemius	1.236 \pm 0.024	1.23 \pm 0.026	1.353 \pm 0.025#
Uterus	0.165 \pm 0.008	0.060 \pm 0.002*	0.075 \pm 0.003#
Ovary	0.045 \pm 0.002	0.064 \pm 0.003*	0.053 \pm 0.006

Total water body (TBW); extracellular fluid (ECF); intracellular fluid (ICF); fat-free mass (FFM); fat mass (FM); brown adipose tissue (BAT); peri-ovarian adipose tissue (POAT). Significance: *PCOS vs Control, $P < 0.05$; #PCOS + Exercise vs PCOS, $P < 0.05$.

45]. Moderate physical exercise caused a reduction of both parameters, corroborating the results found for body weight.

BMI reflects the ratio between body weight and the length of the animals. We observed that PCOS rats began to gain more weight after day 14, but this was not sufficient for altering BMI and Lee index between PCOS and control group. Despite obesity being a highly prevalent condition in women with PCOS, BMI is not the best marker of the condi-

tion, presenting several limitations, such as the fact that it is not representative of body fat distribution or the degree of adipose tissue dysfunction [46].

Regarding nutritional parameters, we observed an increase in energy intake, accompanied by increased feed efficiency. This can be explained by the impairment of the satiety regulation associated with PCOS. Satiety involves complex signaling between the gastrointestinal tract, adipose tissue and hypothalamus, and other stimuli [48]. In women with PCOS, hyperandrogenism, and hyperinsulinemia, as well as the excess visceral adipose tissue, can alter the secretion and signaling of leptin, an inhibitor of food intake secreted by adipose tissue. Moreover, the secretion of gastrointestinal hormones and microbiota can be altered in this syndrome, causing impairment of food intake control [48,49]. In contrast, rats in the PCOS + Exercise group had a marked decrease in energy intake and feed efficiency, which can be due to moderate exercise effects in appetite regulation, which include suppressing ghrelin caused by blood redistribution, cytokine release, changes in plasma glucose and insulin concentration, regulation of autonomic nervous system (ANS) activity, and muscle metabolism that increases anorexigenic signals by gastrointestinal hormones, such as peptide tyrosine (PYY) and glucagon-like peptide 1 (GLP-1) [50]. Regarding voluntary food intake (VFI), there was no difference between the groups studied.

Regarding body composition, we observed that weight gain in rats with PCOS in this study seems to be more related to an increase in total body water (TBW), and fat-free mass (FFM), this last component is a result of all the lean mass, including TBW, muscle mass, and bone mass. Muscle mass, as a component of FFM, may have increased because of the bioavailability of testosterone caused by the induction of PCOS by letrozole, which acts to prevent the conversion of testosterone into estradiol. Testosterone has anabolic actions in muscles, contributing to increasing muscle mass [44,51,52].

In the PCOS group, the increase in FFM was like the findings of previous studies [53–55]. However, we observed a marked increase specifically in the TBW component of the PCOS group, as well as in the intracellular compartment. Previous data about women with PCOS do not indicate an increase in TBW, ECF, and ICF [56], and there is limited data available from the evaluation of experimental models of PCOS.

Mechanisms that can explain the increase in TBW in PCOS animals are yet poorly understood, but a study by Johannsson et al. [57] suggests that testosterone-increased bioavailability may augment, or estradiol may attenuate the anti-natriuretic actions mediated by growth hormone (GH). In this study, treatment of hypopituitary with testosterone caused an increased ECW. These differences are more evident when comparing men's and women's body composition, being the first characterized by an increased FFM. Thus, the increase in this study can be due to increased androgen hormones.

In this study, rats with PCOS had a decrease in fat mass and WAT weight, probably due to the increase in FFM and possibly energy expenditure. It is important to mention that women with PCOS can have a dysfunction in the endocrine and metabolic functions of adipose tissue and skeletal muscle [58–60]. Also, fat distribution is a relevant aspect, because visceral adiposity is a more inflammatory condition, which increases the risks of chronic diseases [60].

In the PCOS + Exercise group, we observed no increase in TBW, but there was an increment in FFM, which can be due to exercise's effect on muscle hypertrophy [25]. These results were supported by the increase in gastrocnemius weight observed in this group, showing a muscle mass gain. This was not observed in the PCOS group.

In the PCOS group, some other alterations occurred, such as a reduction in the uterus and an increase in ovarian weight. The ovary is also an endocrine organ that produces estrogens, androgens, progesterone, and some other hormones that regulate uterus morphology and functions [61]. Exercise training prevents ovarian increase and minimized uterus weight reduction in the PCOS + Exercise group. Exercise affects

Table 3

Effects of physical exercise on GSH (NPSH/mg), SOD (U), Nitrite (μM), MDA (nmol/g), and MPO (U/mg) levels of the brown adipose tissue and peri-ovarian adipose tissue in control ($n = 10$), PCOS ($n = 10$) and PCOS + Exercise ($n = 10$) rats. Data are expressed as mean \pm SEM and were statistically analyzed by one-way ANOVA, followed by the Tukey test. Significance: $P < 0.05$. * $P < 0.05$ – Ctrl vs. PCOS; # $P < 0.05$, PCOS + Exercise vs. PCOS.

	GSH ($\mu\text{gGSH/g tissue}$)	SOD (USOD/ $\mu\text{g tissue}$)	Nox (μM)	MDA (nmol/g)	MPO (U/mg)
(A) Brow adipose tissue					
Control	54.39 \pm 5.85	1.33 \pm 0.09	467.30 \pm 51.79	920.3 \pm 201.8	0.45 \pm 0.18
PCOS	33.71 \pm 8.48	1.14 \pm 0.23	581.60 \pm 29.14	1751 \pm 75.97*	1.26 \pm 0.15*
PCOS + Exercise	54.71 \pm 13.95	1.69 \pm 0.05#	426.80 \pm 23.09#	503.3 \pm 64.97#	0.66 \pm 0.12#
(B) Peri-ovarian adipose tissue					
Control	51.17 \pm 9.21	2.41 \pm 0.20	199.0 \pm 24.54	522.9 \pm 89.12	0.06 \pm 0.03
PCOS	16.28 \pm 4.32*	1.75 \pm 0.05*	129.0 \pm 7.1*	834.6 \pm 64.80*	0.04 \pm 0.01
PCOS + Exercise	9.49 \pm 2.08	1.34 \pm 0.10	60.72 \pm 14.04#	316.7 \pm 50.49#	0.06 \pm 0.01

Data are expressed as mean \pm (SEM) and were statistically analyzed using the one-way ANOVA test, followed by the Tukey test. Significance: * $P < 0.05$ PCOS vs Control, # $P < 0.05$; #PCOS + Exercise vs PCOS.

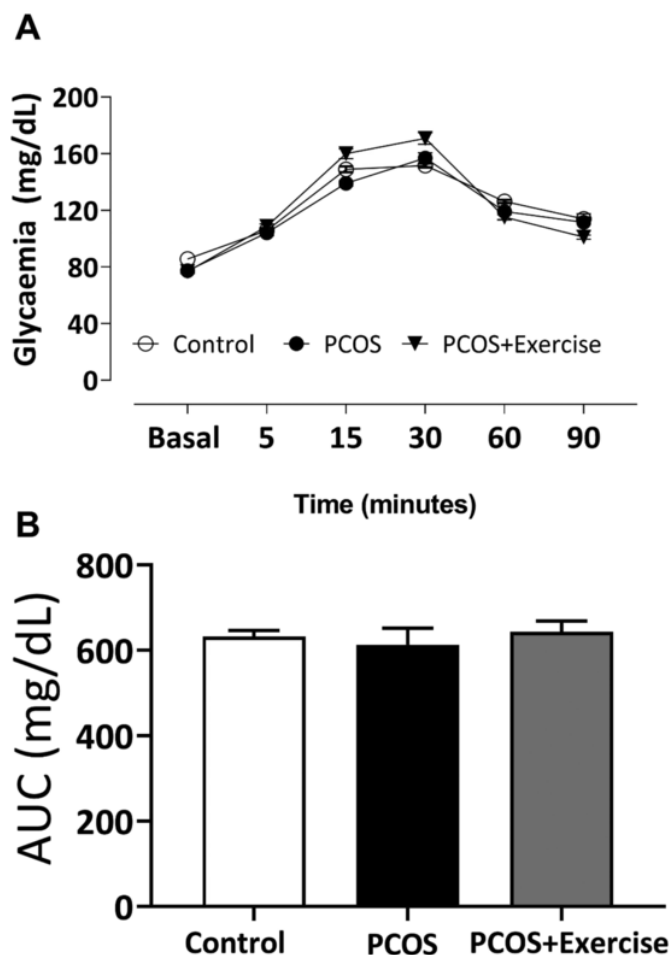


Fig. 4. Intraperitoneal Glucose Tolerance Test in control ($n = 9$), PCOS ($n = 9$), and PCOS + Exercise ($n = 9$) rats. Data expressed as mean \pm SEM. No difference was observed between all groups.

ovulation probably via modulation of the hypothalamic-pituitary-ovarian (HPO) axis due to increased activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis [62].

An interesting phenomenon occurred in the PCOS + Exercise group, which was a BAT weight increase. Brown adipose tissue (BAT) is an endocrine organ and is the primary site for adaptive nonshivering thermogenesis to generate heat under cold stress in mammals, which can be activated by diet, cold exposure, and exercise [63,64]. This tis-

sue secretes adipokines that act on WAT, pancreas, bone, liver, heart, brain, vascular, and immune system homeostasis [64].

Brown adipose tissue is low in content and activity in adults and can mediate thermogenesis by elevating the expression of uncoupling protein 1 (UCP1) [65] promoting systemic metabolic homeostasis through cytokines such as adiponectin and fibroblast growth factor 21 (FGF21) [66]. In this sense, thermogenesis through adipose tissue is an important link in energy metabolism that can improve the occurrence and development of a variety of metabolic diseases by regulating mitochondrial function [67]. In addition, studies have reported that BAT levels are reduced in PCOS patients and that BAT thermogenesis is inversely correlated with androgen levels [68]. The increase and activation of BAT may serve as a promising strategy for the treatment of metabolic diseases such as PCOS.

In the analysis of rat thermography, we observed a significant increase in body temperature on the back, which is the BAT location, in the PCOS + Exercise group, probably promoted by the exercise-induced BAT activation. Moreover, BAT also raises thermogenic capacity and elevates energy expenditure. Yao et al. [69] observed that brown adipose tissue transplantation in animal models significantly regulated menstrual cycles, promoted glucose homeostasis, improved insulin sensitivity, and reversed infertility and PCOS metabolic abnormality.

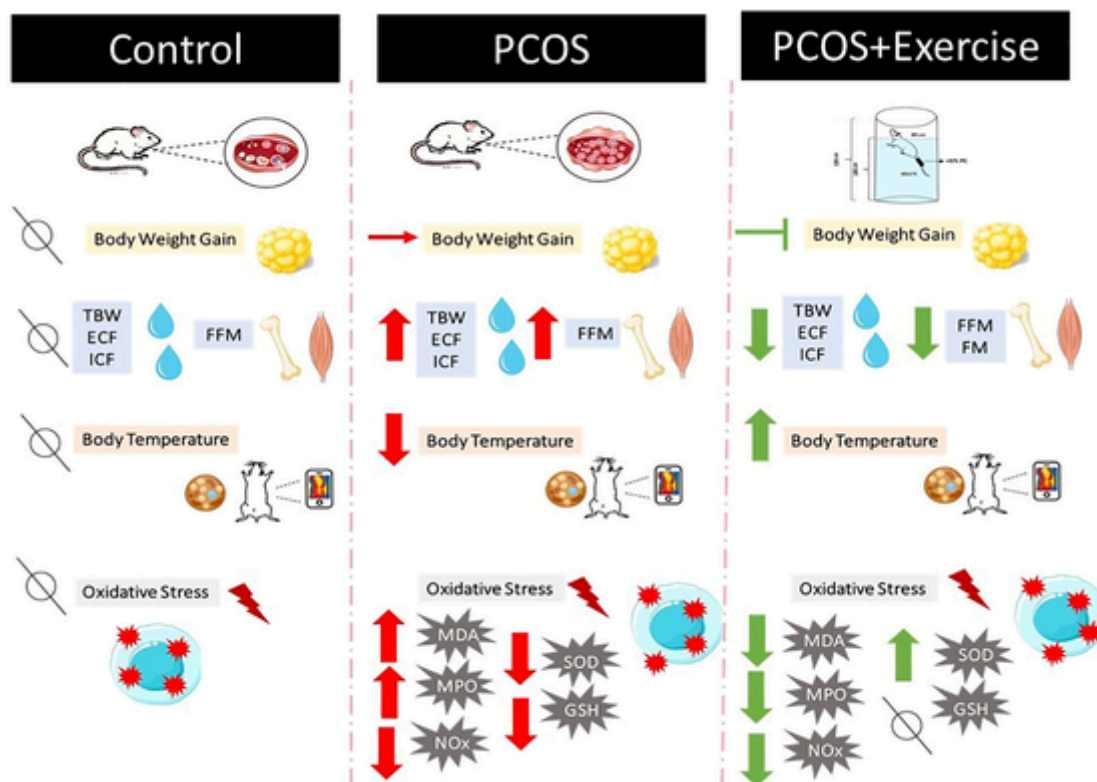
Adipose tissue dysfunction is a common aspect of the PCOS phenotype [36]. Hyperglycemia, hyperinsulinism, and chronic low-grade inflammation can contribute to the manifestation of oxidative stress in this syndrome [70]. In our study, we verified that rats with PCOS had an increase in pro-oxidant markers (Nox, MDA concentrations, and MPO activity) in BAT and WAT, as well as a reduction in antioxidant markers (SOD activity and GSH concentrations).

Therefore, although the induction of PCOS caused a reduction in body fat in the rats, there seemed to be a dysfunction in the adipose tissue, characterized by increased oxidative stress. Chen, Xu, and Zang [71] also found an increase in MDA, with a reduction in glutathione peroxidase (GPx) and SOD activity in visceral adipose tissue of PCOS women. Oxidative stress in PCOS contributes to impaired insulin cascade signaling, hyperandrogenism, and damage to ovarian functions in this syndrome [72].

Exercise caused the reduction of Nox and MDA concentrations and MPO activity, simultaneously with higher SOD activity in the BAT of the PCOS + Exercise group. Also, there was a significant reduction in Nox and MDA concentrations in the WAT of the PCOS + Exercise group. Moderate exercise modulates immunological and mitochondrial functions, and upregulates antioxidant system activity, being previously associated with improvement in oxidative stress in women with PCOS [20].

In conclusion, we found that the moderate physical exercise protocol was able to improve body composition, nutritional parameters, and

Fig. 5.



biomarkers of oxidative stress in BAT and WAT induced by PCOS. Increased oxidative stress may cause ovarian dysfunction in PCOS patients, and can contribute to anovulation, besides playing an important role in pathogenesis. Although the underlying mechanisms have not yet been fully elucidated, it is evident that oxidative stress plays a role in the pathogenesis of PCOS. Thus, our results suggest that physical exercise has protective and antioxidant properties in PCOS. Thus, in Fig. 5, we show the schema that summarized the principal results of the study.

5. Perspectives and limitations

PCOS is a very prevalent disease worldwide. In this sense, the search for therapies that can improve the quality of life of women is very important. Thus, exercise plays a fundamental role, favoring the maintenance of weight control and body composition. In this sense, this study has as a future perspective the deepening of cellular and molecular mechanisms by which exercise can be beneficial for women with PCOS. In addition, it is important to understand how PCOS can affect not only the reproductive system but also other physiological systems such as gastrointestinal functions, with this system being the focus of future studies. The study has as a limitation the fact that it only investigated the protective effect of exercise and not the effect of treatment, of PCOS already present. In this sense, new protocols should be suggested to study the role of exercise after induction, where it will be possible to identify the benefits of regular exercise practice in the presented parameters. Furthermore, the development of PCOS can have several etiologies and, therefore, there is a limitation in the translation of the results obtained.

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121754>.

Uncited reference

[47]

Declaration of competing interest

All authors declare no conflicts of interest, financial or otherwise.

Acknowledgments

It was supported by grants from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES), CNPq (Edital Universal - CNPq. 421641/2018-5) and Piauí Research Support Foundation (Fundação de Amparo à Pesquisa do Piauí - FAPEPI).

References

- [1] T. Tanbo, J. Mellembakken, S. Bjercke, E. Ring, T. Åbyholm, P. Fedorcsak, Ovulation induction in polycystic ovary syndrome, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 97 (2018) 1162–1167, <https://doi.org/10.1111/aogs.13395>.
- [2] P. Bhide, R. Homburg, Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome, *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 37 (2016) 38–45, <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.03.004>.
- [3] F. Azin, H. Khazali, Neuropeptide galanin and its effects on metabolic and reproductive disturbances in female rats with estradiol valerate (EV)-induced polycystic ovary syndrome (PCOS), *Neuropeptides* 80 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.npep.2020.102026>.
- [4] G. Jelodar, S. Masoomi, F. Rahmanifar, Hydroalcoholic extract of flaxseed improves polycystic ovary syndrome in a rat model, *Iran. J. Basic Med Sci.* 21 (2018), <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.25778.6349>.
- [5] A. Aflatounian, M.C. Edwards, V.R. Paris, M.J. Bertoldo, R. Desai, R.B. Gilchrist, W.L. Ledger, D.J. Handelsman, K.A. Walters, Androgen signaling pathways driving reproductive and metabolic phenotypes in a PCOS mouse model, *J. Endocrinol.* 245 (2020), <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0530>.
- [6] T. Xiong, V.R. Paris, M.C. Edwards, Y. Hu, B.J. Cochran, K.A. Rye, W.L. Ledger, V. Padmanabhan, D.J. Handelsman, R.B. Gilchrist, K.A. Walters, Androgen signaling in adipose tissue, but less likely skeletal muscle mediates the development of metabolic traits in a PCOS mouse model, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 323 (2022), <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00418.2021>.
- [7] G.S. Bracho, M.V. Acosta, G.A. Altamirano, M.V. Tschopp, E.H. Luque, L. Kass, V.L. Bosquiazzo, Androgen receptor and uterine histoarchitecture in a PCOS rat model, *Mol. Cell. Endocrinol.* 518 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110973>.
- [8] N. Begum, K. Manipriya, B. Veeresh, Role of high-fat diet on the letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 917 (2022),

- <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174746>.
- [9] A.S. Kauffman, V.G. Thackray, G.E. Ryan, K.P. Tolson, C.A. Glidewell-Kenney, S.J. Semaan, M.C. Poling, N. Iwata, K.M. Breen, A.J. Duleba, E. Stener-Victorin, S. Shimasaki, N.J. Webster, P.L. Mellon, A novel letrozole model recapitulates both the reproductive and metabolic phenotypes of polycystic ovary syndrome in female mice, *Biol. Reprod.* 93 (2015), <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.131631>.
- [10] N. Li, C. Yang, H. Xie, Y. Liu, Y. Liao, Effects of aerobic exercise on rats with hyperandrogenic polycystic ovarian syndrome, *Int. J. Endocrinol.* 2021 (2021) 1–12, <https://doi.org/10.1155/2021/5561980>.
- [11] Y. Huang, X. Zhang, Luteolin alleviates polycystic ovary syndrome in rats by resolving insulin resistance and oxidative stress, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 320 (2021) E1085–E1092, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00034.2021>.
- [12] M.J. Khan, A. Ullah, S. Basit, Genetic basis of polycystic ovary syndrome (PCOS): current perspectives, *Appl. Clin. Genet.* 12 (2019) 249–260, <https://doi.org/10.2147/TACG.S200341>.
- [13] L.C.S. de Oliveira, P.V.N. Telles, J.F.R. e Sousa, A.K.M. Cavalcante, D.V.T. Wong, R.C. Lima-Junior, F.L. Torres-Leal, A.A. dos Santos, M.T.B. da Silva, Influence of the physical exercise on the decrease in the gastric emptying and alter appetite and food behavior in rats dexamethasone-treatment, *Physiol. Behav.* 209 (2019) 112610, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112610>.
- [14] J.D. Covington, S. Bajpeyi, C. Moro, Y.D. Tchoukalova, P.J. Ebenezer, D.H. Burk, E. Ravussin, L.M. Redman, Potential effects of aerobic exercise on the expression of perilipin 3 in the adipose tissue of women with polycystic ovary syndrome: a pilot study, *Eur. J. Endocrinol.* 172 (2015) 47–58, <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0492>.
- [15] C. Moro, M. Pasarica, K. Elkind-Hirsch, L.M. Redman, Aerobic exercise training improves atrial natriuretic peptide and catecholamine-mediated lipolysis in obese women with polycystic ovary syndrome, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94 (2009) 2579–2586, <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0051>.
- [16] A. Fenzl, F.W. Kiefer, Brown adipose tissue and thermogenesis, *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.* 19 (2014), <https://doi.org/10.1515/hmbci-2014-0022>.
- [17] S. Shorakae, E. Jona, B. de Courten, G.W. Lambert, E.A. Lambert, S.E. Phillips, I.J. Clarke, H.J. Teede, B.A. Henry, Brown adipose tissue thermogenesis in polycystic ovary syndrome, *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* (2018) cen.13913, <https://doi.org/10.1111/cen.13913>.
- [18] W.S. Dantas, L.H. Murai, L.A. Perandini, H. Azevedo, C.A. Moreira-Filho, N.O.S. Camara, H. Roschel, B. Gualano, Acute exercise elicits differential expression of insulin resistance genes in the skeletal muscle of patients with polycystic ovary syndrome, *Clin. Endocrinol.* 86 (2017) 688–697, <https://doi.org/10.1111/cen.13307>.
- [19] M. Mohammadi, Oxidative stress and polycystic ovary syndrome: a brief review, *Int. J. Prev. Med.* 10 (2019) 86, <https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM.576.17>.
- [20] X. Wu, H. Wu, W. Sun, C. Wang, Improvement of anti-Müllerian hormone and oxidative stress through regular exercise in chinese women with polycystic ovary syndrome, *Hormones* 20 (2021) 339–345, <https://doi.org/10.1007/s42000-020-00233-7>.
- [21] M.S. Jadhav, S. Menon, S. Shailajan, Anti-androgenic effect of *Symplocos racemosa* Roxb. against letrozole induced polycystic ovary using rat model, *J. Coast. Life Med.* (2013), <https://doi.org/10.12980/JCLM.1.2013C79>.
- [22] S. Sherafatmanesh, M. Ekramzadeh, N. Tanideh, M.-T. Golmakani, F. Koohpeyma, The effects of thylakoid-rich spinach extract and aqueous extract of caraway (*Carum carvi* L.) in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome rats, *BMC Complement Med. Ther.* 20 (2020) 249, <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03044-w>.
- [23] A.K.L. Freitas, M.T.B. Silva, C.M.S. Silva, M.M.G. Prata, F.A.P. Rodrigues, R.J.B. Siqueira, A.A.M. Lima, A.A. Santos, A. Havt, Alanlyl-glutamine protects the intestinal barrier function in trained rats against the impact of acute exhaustive exercise, *Braz J Med Biol Res.* 53 (2020) :e9211. doi: 10.1590/1414-431X20209211.
- [24] M.S. Silva, Y. de Andrade Gomes, M.L. de Sousa Cavalcante, P.V.N. Telles, A.C.A. da Silva, J.S. Severo, R. de Oliveira Santos, B.L.B. dos Santos, G.L. Cavalcante, C.H.L. Rocha, R.C. Palheta-Junior, R. de Cássia Meneses, R.F. dos Oliveira, J.P.J. Santos, A.A. dos Sabino, M. Tolentino Santos, Exercise and pyridostigmine prevents gastric emptying delay and increase blood pressure and cisplatin-induced baroreflex sensitivity in rats, *Life Sci.* 267 (2021) 118972, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118972>.
- [25] P.V.N. Telles, J.S. Severo, L.C.S. de Oliveira, J.F. Reis e Sousa, A.K.M. Cavalcante, A.C.A. da Silva, A. Aguiar dos Santos, M. Tolentino, Effect of anaerobic resistance training on gastric emptying of solids, nutritional parameters, and food behavior in the rats treated with dexamethasone, *Physiol. Behav.* 245 (2022) 113674, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113674>.
- [26] A.K.M. Cavalcante, R.C.L. Siqueira, V.N. Feitosa Júnior, C.R. de Andrade, A.A. Santos, M.T.B. Silva, Acute exercise inhibits gastric emptying of liquids in rats: influence of the NO-cGMP pathway, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 51 (2018), <https://doi.org/10.1590/1414-431x20187541>.
- [27] V.A.G. Giozetti, A. Rafacho, A.C. Boschero, E.M. Carneiro, Dexamethasone treatment in vivo counteracts the functional pancreatic islet alterations caused by malnourishment in rats, *Metabolism* 57 (2008) 617–24, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.12.004>.
- [28] A. Warner, A. Kjellstedt, A. Carreras, G. Böttcher, X.-R. Peng, P. Seale, N. Oakes, D. Lindén, Activation of β 3 -adrenoceptors increases in vivo free fatty acid uptake and utilization in brown but not white fat depots in high-fat-fed rats, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 311 (2016) E901–E910, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00204.2016>.
- [29] T. Hu, X. Yuan, R. Ye, H. Zhou, J. Lin, C. Zhang, H. Zhang, G. Wei, M. Dong, Y. Huang, W. Lim, Q. Liu, H.J. Lee, W. Jin, Brown adipose tissue activation by rutin ameliorates polycystic ovary syndrome in rat, *J. Nutr. Biochem.* 47 (2017) 21–28, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.04.012>.
- [30] R. Ye, C. Yan, H. Zhou, Y. Huang, M. Dong, H. Zhang, X. Jiang, S. Yuan, L. Chen, R. Jiang, Z. Cheng, K. Zheng, Q. Zhang, W. Jin, Brown adipose tissue activation by cold treatment ameliorates polycystic ovary syndrome in rat, *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 12 (2021), <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.744628>.
- [31] M. Uchiyama, M. Mihara, Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test, *Anal. Biochem.* 86 (1978) 271–278, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1).
- [32] A.C.A. da Silva, J.S. Severo, B.L.B. dos Santos, P.H.M. Mendes, L.M.S. Nobre, A.P. de Oliveira, F.C.S. Ferreira, J.V.R. Medeiros, R.C. Lima-Junior, A. Havt, R.C. Palheta-Junior, A.A. dos Santos, M. Tolentino, Moderate physical exercise activates ATR2 receptors, improving inflammation and oxidative stress in the duodenum of 2K1C hypertensive rats, *Front. Physiol.* 12 (2021), <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734038>.
- [33] R. de Oliveira Santos, G. da Silva Cardoso, L. da Costa Lima, M.L. de Sousa Cavalcante, M.S. Silva, A.K.M. Cavalcante, J.S. Severo, F.B. de Melo Sousa, G. Pacheco, E.H.P. Alves, L.M.S. Nobre, J.V.R. Medeiros, R.C. Lima-Junior, A.A. dos Santos, M. Tolentino, L-Glutamine and physical exercise prevent intestinal inflammation and oxidative stress without improving gastric dysmotility in rats with ulcerative colitis, *Inflammation* 44 (2021) 617–632, <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01361-3>.
- [34] G.E. Ryan, S. Malik, P.L. Mellon, Antiandrogen treatment ameliorates reproductive and metabolic phenotypes in the letrozole-induced mouse model of PCOS, *Endocrinology* 159 (2018) 1734–1747, <https://doi.org/10.1210/en.2017-03218>.
- [35] F. Zhang, T. Ma, P. Cui, A. Tamadon, S. He, C. Huo, G. Yierfulati, X. Xu, W. Hu, X. Li, L.R. Shao, H. Guo, Y. Feng, C. Xu, Diversity of the gut microbiota in dihydrotestosterone-induced PCOS rats and the pharmacologic effects of Diane-35, probiotics, and berberine, *Front. Microbiol.* 10 (2019), <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00175>.
- [36] H.F. Escobar-Morreale, Polycystic ovary syndrome: definition, etiology, diagnosis and treatment, *Nat. Rev. Endocrinol.* 14 (2018) 270–284, <https://doi.org/10.1038/nrendo.2018.24>.
- [37] Y. Tian, J. Gou, H. Zhang, J. Lu, Z. Jin, S. Jia, L. Ba, The anti-inflammatory effects of 15-HETE on osteoarthritis during treadmill exercise, *Life Sci.* 15 (273) (2021 May) 119260, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119260>.
- [38] T. Liu, Y. Cui, S. Dong, X. Kong, X. Xu, Y. Wang, Q. Wan, Q. Wang, Treadmill training reduces cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis through activation of SLC7A11/GPX4, *Oxidative Med. Cell. Longev.* 6 (2022) (2022 Jun) 8693664, <https://doi.org/10.1155/2022/8693664>.
- [39] E.B.S. Lima, L.C.S. Oliveira, G.S. Cardoso, P.V.N. Telles, L. da Costa Lima, J.F.R. Sousa, R.P.N. Araújo, A.P. Oliveira, R.F. dos Santos, A.A. dos Santos, M.T.B. Silva, Moderate-intensity exercise and renin-angiotensin system blockade improve renovascular hypertension (2K1C)-induced gastric dysmotility in rats, *Life Sci.* 210 (2018) 55–64, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.08.053>.
- [40] M.S. Silva, Y.A. Gomes, M.L.S. Cavalcante, P.V.N. Telles, A.C.A. da Silva, J.S. Severo, R.O. Santos, B.L.B. dos Santos, G.L. Cavalcante, C.H.L. Rocha, R.C. Palheta-Junior, R.C. Meneses Oliveira, R.F. dos Santos, J.P.J. Sabino, A.A. dos Santos, M.T.B. Silva, Exercise and pyridostigmine prevent gastric emptying delay and increase blood pressure and cisplatin-induced baroreflex sensitivity in rats, *Life Sci.* 267 (2021) 118972, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118972>.
- [41] S.-F. Cao, W.-L. Hu, M.-M. Wu, L.-Y. Jiang, Effects of exercise intervention on preventing letrozole-exposed rats from polycystic ovary syndrome, *Reprod. Sci.* 24 (2017) 456–462, <https://doi.org/10.1177/1933719116657892>.
- [42] R. de Lima Nunes, I.K. dos Santos, R.N. Cobucci, G.S. Pichini, G.M. Soares, T.M. de Oliveira Maranhão, P.M.S. Dantas, Lifestyle interventions and quality of life for women with polycystic ovary syndrome, *Medicine* 98 (2019) e18323, <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018323>.
- [43] C.-H. Kim, S.-H. Lee, Effectiveness of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome patients with obesity: a systematic review and meta-analysis, *Life* 12 (2022) 308, <https://doi.org/10.3390/life12020308>.
- [44] P.S. Poojary, G. Nayak, G. Panchanan, A. Rao, S. das Kundapur, S.G. Kalthur, S. Mutalik, S.K. Adiga, Y. Zhao, J. Bakkum-Gamez, A.Y. Chang, C. DeStephano, M. Sherman, N. Kannan, G. Kalthur, Distinctions in PCOS induced by letrozole vs dehydroepiandrosterone with high-fat diet in mouse model, *Endocrinology* 163 (2022), <https://doi.org/10.1210/endo/bqac097>.
- [45] A.P.A. Macêdo, G.S. Cordeiro, L.S. Santos, D.A.E. Santo, G.S. Perez, R.D. Couto, M.E.P.C. Machado, J.M.B. Medeiros, Murinometric measurements and retroperitoneal adipose tissue in young rats exposed to the high-fat diet: is there a correlation? *Braz. J. Biol.* 81 (2021) 246–250, <https://doi.org/10.1590/1519-6984.221405>.
- [46] B. Halpern, M.C. Mancini, M.E. de Melo, R.N. Lamounier, R.O. Moreira, M.K. Carra, T.K. Kyle, C. Cercato, C.L. Boguszewski, Proposal of an obesity classification based on weight history: an official document by the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society for the Study of Obesity and Metabolic Syndrome (ABESO), *Arch. Endocrinol. Metab.* 66 (2022), <https://doi.org/10.20945/2359-399700000465>.
- [47] T. Lin, S. Li, H. Xu, H. Zhou, R. Feng, W. Liu, Y. Sun, J. Ma, Gastrointestinal hormone secretion in women with polycystic ovary syndrome: an observational study, *Hum. Reprod.* 30 (2015) 2639–2644, <https://doi.org/10.1093/humrep/dev231>.
- [48] L. Cifuentes, A. Acosta, Homeostatic regulation of food intake, *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 46 (2022) 101794, <https://doi.org/10.1016/j.clnre.2021.101794>.
- [49] D. Romualdi, V. Immediata, S. de Cicco, V. Tagliafem, A. Lanzone, Neuroendocrine regulation of food intake in polycystic ovary syndrome, *Reprod.*

- Sci. 25 (2018) 644–653, <https://doi.org/10.1177/1933719117728803>.
- [50] T.J. Hazell, H. Islam, L.K. Townsend, M.S. Schmale, J.L. Copeland, Effects of exercise intensity on plasma concentrations of appetite-regulating hormones: potential mechanisms, *Appetite* 98 (2016) 80–88, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.12.016>.
- [51] S. Taylor, R.M. Islam, R.J. Bell, C. Hemachandra, S.R. Davis, Endogenous testosterone concentrations and muscle mass, strength and performance in women, a systematic review of observational studies, *Clin. Endocrinol.* (2023), <https://doi.org/10.1111/cen.14874>.
- [52] M.Y. Jaffrin, H. Morel, Body fluid volumes measurements by impedance: a review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods, *Med. Eng. Phys.* 30 (2008) 1257–1269, <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2008.06.009>.
- [53] U. Ezeh, M. Pall, R. Mathur, R. Azziz, Association of fat to lean mass ratio with metabolic dysfunction in women with polycystic ovary syndrome, *Hum. Reprod.* 29 (2014) 1508–1517, <https://doi.org/10.1093/humrep/deu096>.
- [54] P. Srikanthan, A.S. Karlamangla, Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes. Findings from The Third National Health and Nutrition Examination Survey, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96 (2011) 2898–2903, <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0435>.
- [55] G.-J. van der Heijden, Z.J. Wang, Z. Chu, G. Toffolo, E. Manesso, P.J.J. Sauer, A.L. Sunehag, Strength exercise improves muscle mass and hepatic insulin sensitivity in obese youth, *Med. Sci. Sports Exerc.* 42 (2010) 1973–1980, <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181df16d9>.
- [56] L. Barrea, A. Arnone, G. Annunziata, G. Muscogiuri, D. Laudisio, C. Salzano, G. Pugliese, A. Colao, S. Savastano, Adherence to the Mediterranean diet, dietary patterns and body composition in women with polycystic ovary syndrome (PCOS), *Nutrients* 11 (2019) 2278, <https://doi.org/10.3390/nu11102278>.
- [57] G. Johannsson, J. Gibney, T. Wolthers, K.C. Leung, K.K. Ho, Independent and combined effects of testosterone and growth hormone on extracellular water in hypopituitary men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2005), <https://doi.org/10.1210/jc.2005-0553>.
- [58] K.B. Comerford, R.U. Almario, K. Kim, S.E. Karakas, Lean mass and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome, *Metabolism* 61 (2012) 1256–1260, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.02.004>.
- [59] J.L. Kuk, K. Kilpatrick, L.E. Davidson, R. Hudson, R. Ross, Whole-body skeletal muscle mass is not related to glucose tolerance or insulin sensitivity in overweight and obese men and women, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 33 (2008) 769–774, <https://doi.org/10.1139/H08-060>.
- [60] M. Lemaitre, S. Christin-Maitre, V. Kerlan, Polycystic ovary syndrome and adipose tissue, *Ann. Endocrinol. (Paris)* (2023), <https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.11.004>.
- [61] P. Hosseinzadeh, M. Barsky, W.E. Gibbons, C.S. Blesson, Polycystic ovary syndrome, and the forgotten uterus, *F S Rev.* 2 (2021) 11–20, <https://doi.org/10.1016/j.xfmr.2020.12.001>.
- [62] O. Hakimi, L.-C. Cameron, Effect of exercise on ovulation: a systematic review, *Sports Med.* 47 (2017) 1555–1567, <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0669-8>.
- [63] A.K. Scheel, L. Espelage, A. Chadt, Many ways to Rome: exercise, cold exposure, and diet—do they all affect BAT activation and WAT browning in the same manner? *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 4759, <https://doi.org/10.3390/ijms23094759>.
- [64] Q. Zhang, R. Ye, Y.-Y. Zhang, C.-C. Fan, J. Wang, S. Wang, S. Chen, X. Liu, Brown adipose tissue and novel management strategies for polycystic ovary syndrome therapy, *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 13 (2022), <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.847249>.
- [65] A. Roesler, L. Kazak, UCP1-independent thermogenesis, *Biochem. J.* 477 (2020), <https://doi.org/10.1042/BCJ20190463>.
- [66] R.C. Gaspar, J.R. Pauli, G.I. Shulman, V.R. Muñoz, An update on brown adipose tissue biology: a discussion of recent findings, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 320 (2021), <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00310.2020>.
- [67] A. Sakers, M.K. Siqueira, P. Seale, C.J. Villanueva, Adipose-tissue plasticity in health and disease, *Cell* 185 (2022), <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.016>.
- [68] M. Lemaitre, S. Christin-Maitre, V. Kerlan, Polycystic ovary syndrome and adipose tissue, *Ann. Endocrinol. (Paris)* 84 (2023), <https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.11.004>.
- [69] L. Yao, Q. Wang, R. Zhang, X. Wang, Y. Liu, F. Di, L. Song, S. Xu, Brown adipose transplantation improves polycystic ovary syndrome-involved metabolome remodeling, *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 12 (2021), <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.747944>.
- [70] P. Dubey, S. Reddy, S. Boyd, C. Bracamontes, S. Sanchez, M. Chattopadhyay, A. Dwivedi, Effect of nutritional supplementation on oxidative stress and hormonal and lipid profiles in PCOS-affected females, *Nutrients* 13 (2021) 2938, <https://doi.org/10.3390/nu13092938>.
- [71] L. Chen, W.M. Xu, D. Zhang, Association of abdominal obesity, insulin resistance, and oxidative stress in adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome, *Fertil. Steril.* 102 (2014) 1167–1174.e4, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.027>.
- [72] J.E. Pruett, S.J. Everman, N.H. Hoang, F. Salau, L.C. Taylor, K.S. Edwards, J.P. Hosler, A.M. Huffman, D.G. Romero, L.L. Yanes Cardozo, Mitochondrial function and oxidative stress in white adipose tissue in a rat model of PCOS: effect of SGLT2 inhibition, *Biol. Sex Differ.* 13 (2022) 45, <https://doi.org/10.1186/s13293-022-00455-x>.