



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO MULTIDISCIPLINAR EM SAÚDE**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS –SBFIS**

LARA FABIANA LUZ MALHEIRO

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE
ATENUA A INFLAMAÇÃO HEPÁTICA ATRAVÉS DA VIA
DE SINALIZAÇÃO TLR4/NF- κ B EM RATAS COM
HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA**

Vitória da Conquista, BA
2024

LARA FABIANA LUZ MALHEIRO

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE
ATENUA A INFLAMAÇÃO HEPÁTICA ATRAVÉS DA VIA
DE SINALIZAÇÃO TLR4/NF- κ B EM RATAS COM
HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR CISPLATINA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas/Sociedade Brasileira de Fisiologia, Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lilianny Souza de Brito Amaral
Universidade Federal da Bahia – UFBA
Instituto Multidisciplinar em Saúde

Vitória da Conquista, BA
2024

Biblioteca Universitária Campus Anísio Teixeira – SIBI/UFBA

M249

Malheiro, Lara Fabiana Luz.

Treinamento intervalado de alta intensidade atenua a inflamação hepática através da via de sinalização TLR4/NF-kB em ratas com hepatotoxicidade induzida por cisplatina / Lara Fabiana Luz Malheiro. -- Vitória da Conquista, BA: UFBA, 2024.
67 f.; il.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Lilianny Souza de Brito Amaral.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas/Sociedade Brasileira de Fisiologia) - Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, 2024.

1. Exercício físico. 2. Quimioterapia. 3. Hepatotoxicidade. I. Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde. II. Amaral, Lilianny Souza de Brito. III. Título.

CDU: 615.28:796

LARA FABIANA LUZ MALHEIRO

**“Treinamento Intervalado de Alta Intensidade atenua a
inflamação hepática através da via de sinalização
TLR4/NF-kB em ratas com hepatotoxicidade induzida por
cisplatina”**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de mestre em
Ciências Fisiológicas e aprovada em sua forma final pelo Programa
Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade
Federal da Bahia.

Vitória da Conquista – BA, 21 de fevereiro de 2024.

Liliany Souza de Brito Amaral

Prof^a. Dr^a. Liliany Souza de Brito Amaral (Orientadora)
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Amélia Cristina Mendes de M. Gusmão

Prof^a. Dr^a. Amélia Cristina Mendes de M. Gusmão (Examinadora Interna)
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Raildo S. Coqueiro

Prof. Dr. Raildo da Silva Coqueiro (Examinador Externo)
Universidade Federal da Bahia (UESB)

AGRADECIMENTOS

A chegada desse momento é vivenciar um mix de emoção inexplicável. Não é apenas a conclusão de uma pós-graduação, mas um sonho realizado, construção de amizades, experiências e aprendizados adquiridos. Quantos momentos, quantas memórias, quantas pessoas, quantos sentimentos... Mas o sentimento que transborda em meu coração é de gratidão. Gratidão à **Deus** por sempre e por tudo. Como o Senhor é bom para com minha vida, sempre me concedendo bençãos, proteção e força em toda essa jornada, além de me presentear com pessoas incríveis que levarei sempre em meu coração. Agradeço também à **Nossa Senhora Aparecida** por sempre acolher as minhas preces e interceder à Deus por mim.

Agradeço aos meus pais, Abelardo e Zilmá, sem eles nada seria possível. Sempre me incentivando em todos os meus sonhos e objetivos. Obrigada pelo apoio, conselhos e tanto amor e carinho. Agradeço também aos meus irmãos, Amanda e Pedro Lucas por todo apoio e por tornarem os meus dias mais leves. Deus não poderia ter me presenteado com uma família melhor. Gratidão, de um modo especial, à todos da minha família por todo apoio.

É imensurável a gratidão que eu tenho pela minha orientadora, Lilians Amaral. Obrigada, prof (como assim te chamo rrsr) por tudo. Admiro não só o seu trabalho e profissionalismo, mas a pessoa que és. Obrigada por ter me acolhido tão bem, por ter acreditado em mim mesmo sem me conhecer. Obrigada por todo ensinamento, dedicação, amizade, confiança, elogios e críticas que vem me fazendo crescer a cada dia. A senhora é um presente de Deus em minha vida.

Gratidão também a todas as pessoas que conheci durante o mestrado e que se tornaram em grandes amigas, especialmente Júlia, Fernanda Karoline e Thiago. Obrigada por dividirem tantos momentos e aprendizados comigo, dentro e fora do laboratório. Foram muitas conversas que tornaram tudo em leveza e tranquilidade. Em especial, agradeço as meninas do grupo de pesquisa, Carol, Érika e Fernanda Portela. Em vocês encontrei acolhimento, amizade, momentos memoráveis, além de ter aprendido muito com cada uma. Não posso deixar de agradecer também à todos do grupo de pesquisa por ter me recepcionado tão bem. Todos têm um lugar especial em meu coração.

Obrigada aos professores Telma, Amélia, Fabrício, Patrícia e Thiago por todo apoio e contribuições técnicas. A realização desse projeto não seria possível sem essa parceria.

Agradeço também ao programa PPGMCF/UFBA-CAT e todas as pessoas e professores que o levou a ser um programa de grande qualidade e importância na formação acadêmica, não só minha, mas de muitos outros profissionais. Agradeço aos técnicos, porteiros e as meninas que deixam o ambiente sempre limpo e organizado para que os trabalhos aconteçam. Agradeço também às agências de fomento, CNPq e Fapesb, pelo financiamento do projeto e pela concessão da bolsa, que foi de extrema importância para a realização desse projeto.

Muito obrigada!

*"O próprio Senhor irá à sua frente e estará com
você. Ele nunca o deixará, nunca o abandonará.*

Não tenha medo! Não se desanime!"

(Deuteronômio 31:8)

RESUMO

MALHEIRO, Lara Fabiana Luz. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade atenua a inflamação hepática através a via de sinalização TLR4/NF- κ B em ratas com hepatotoxicidade induzida por cisplatina. Instituto Multidisciplinar de Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2024.

A cisplatina (CP) é um quimioterápico amplamente utilizado para o tratamento de vários tipos de tumores sólidos, contudo a falta de seletividade afeta células saudáveis, provocando diversos efeitos citotóxicos, incluindo a hepatotoxicidade. Embora os mecanismos envolvidos na hepatotoxicidade não estejam totalmente esclarecidos, evidências apontam para uma importante participação do processo inflamatório no agravamento e progressão dos danos teciduais. Recentemente, alguns estudos têm reportado os efeitos hepatoprotetores da prática regular de exercícios físicos aeróbicos, contudo ainda não está clara a influência da manipulação de suas variáveis sobre tal hepatoproteção, especialmente em lesões hepáticas agudas. Assim, este estudo tem como objetivo comparar os efeitos entre o pré-condicionamento com o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) e treinamentos tradicionais contínuos de leve (LIT) e moderada (MIT) intensidades sobre marcadores inflamatórios em ratas wistar com hepatotoxicidade induzida por CP. Para tanto, 35 ratas wistar foram divididas em cinco grupos (n=7 em cada grupo): controle e sedentários (C+S); tratados com CP e sedentário (CP+S); tratados com CP e submetidos ao LIT (CP+LIT); tratados com CP e submetidos ao MIT (CP+MIT) e tratados com CP e submetidos ao HIIT (CP+HIIT). Os protocolos de treinamentos consistiram de corrida em esteira motorizada, 5 dias por semana, por 8 semanas, antes do tratamento com CP. Ao final das 8 semanas de treinamento, as ratas receberam uma única injeção de CP (5 mg/kg i.p) ou solução salina, e 7 dias depois da injeção foram eutanasiadas. Amostras do fígado foram coletadas para avaliar a expressão do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), do receptor toll like 4 (TLR4), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10, o número de células ED-1 positivas e marcadores de macrófagos M1 (iNOS) e M2 (arginase 1) no tecido hepático. Os nossos resultados mostram que o tratamento com a CP promoveu aumento de todos os marcadores pró-inflamatórios, incluindo TLR4/NF- κ B, citocinas pró-inflamatórias, imunomarcção de células ED-1 positivas e expressão do marcador de macrófago do tipo M1 em relação ao grupo controle. No entanto, o HIIT foi o protocolo de exercício mais eficaz em reduzir o aumento de todos esses marcadores quando comparado aos protocolos LIT e MIT. Adicionalmente, o pré-condicionamento com o HIIT potencializou as expressões da citocina anti-inflamatória IL-10 e do marcador de macrófagos do tipo M2, ao passo em que reduziu a expressão do marcador de macrófagos do tipo M1 no tecido hepático. Desse modo, o presente estudo sugere que o pré-condicionamento físico com o HIIT foi mais eficaz em promover efeitos hepatoprotetores do que os protocolos de pré-condicionamentos com LIT e MIT, regulando importantes marcadores inflamatórios através da modulação da via de sinalização TLR4/NF- κ B no tecido hepático de ratas tratadas com CP.

Palavras-chaves: Hepatotoxicidade. Cisplatina. Exercício físico. HIIT. Inflamação.

ABSTRACT

MALHEIRO, Lara Fabiana Luz. High-intensity interval training alleviates hepatic inflammation through the TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats with cisplatin hepatotoxicity. Instituto Multidisciplinar de Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2024.

Cisplatin (CP) is a chemotherapy agent widely used to treat various types of solid tumors. However, its lack of selectivity affects healthy cells, causing several cytotoxic effects, including hepatotoxicity. Although the underlying mechanisms of hepatotoxicity are not fully understood, evidence suggests a significant involvement of the inflammatory process in the exacerbation and progression of tissue damage. Recently, some studies have reported the hepatoprotective effects mediated by regular aerobic physical exercise. However, it is still unclear which intensity is most effective in enhancing these protective effects, especially in acute liver injuries. Therefore, this study aims to compare the impacts between preconditioning with high-intensity interval training (HIIT) and traditional continuous training of light (LIT) and moderate (MIT) intensities on inflammatory markers in Wistar rats with CP-induced hepatotoxicity. For this purpose, 35 Wistar female rats were divided into five groups (n=7 in each group): control and sedentary (C+S); treated with CP and sedentary (CP+S); treated with CP and subjected to LIT (CP+LIT); treated with CP and subjected to MIT (CP+MIT); and treated with CP and subjected to HIIT (CP+HIIT). The training protocols consisted of treadmill running, 5 days a week, for 8 weeks before the CP treatment. At the end of the 8-week training period, the rats received a single injection of CP (5 mg/kg i.p) or saline, and 7 days after the injection, they were euthanized. Liver samples were collected to evaluate the expression of nuclear factor kappa B (NF- κ B), toll-like receptor 4 (TLR4), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, and IL-10, the number of ED-1 positive cells, and M1 (iNOS) and M2 (arginase 1) macrophages markers in the hepatic tissue. Our results show that CP treatment promoted an increase in all pro-inflammatory markers, including TLR4/ NF- κ B, pro-inflammatory cytokines, immunostaining of ED-1 positive cells, and expressions of M1 macrophage marker compared to the control group. However, HIIT was the most effective exercise protocol in reducing the increase in all these markers compared to LIT and MIT protocols. Additionally, preconditioning with HIIT potentiated the anti-inflammatory cytokine IL-10 and the M2 macrophage marker expressions, while reducing the expression of the M1 macrophage marker in liver. Thus, the present study suggests that physical preconditioning with HIIT was more effective in promoting hepatoprotective effects than LIT and MIT preconditioning protocols, regulating important inflammatory markers through modulation of the TLR4/NF- κ B signaling pathway

Keywords: Hepatotoxicity. Cisplatin. Physical exercise. HIIT. Inflammation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELA CISPLATINA	12
2.2 PROCESSO INFLAMATÓRIO NA INJÚRIA HEPÁTICA INDUZIDA PELA CISPLATINA	14
2.3 INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS	17
2.4 EFEITOS HEPATOPROTETORES DO TREINAMENTO AERÓBICO NA REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA LOCAL	18
2.4.1 Efeitos Anti-Inflamatórios Hepáticos do Treinamento de Intensidade Leve e Moderada ...	18
2.4.2 Efeitos Anti-Inflamatórios Hepáticos do HIIT	21
3. JUSTIFICATIVA	24
4. OBJETIVOS	25
4.1. OBJETIVO GERAL	25
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
5. METODOLOGIA	26
5.1. ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	26
5.2 TESTE DE CORRIDA MÁXIMA	27
5.3. PROTOCOLOS DE TREINAMENTOS AERÓBICOS	27
5.3. EXTRAÇÃO DE RNA E PCR QUANTITATIVO EM TEMPO REAL	28
5.4. ENSAIO DE IMUNOABSORÇÃO ENZIMÁTICA (ELISA).....	29
5.5. ESTUDOS DE IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	29
5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
6. RESULTADOS	31
6.1 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE A EXPRESSÃO DE NF- κ B E TLR4.....	31
6.2 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE OS NÍVEIS DAS CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS (TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8)	32
6.3 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE OS NÍVEIS DE IL-10 E RAZÃO TNF- α /IL-10.....	34
6.4 EFEITOS DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO SOBRE A IMUNOMARCAÇÃO DE CÉLULAS DE KUPFFER.....	35
6.5 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE AS EXPRESSÕES GÊNICAS DE MARCADORES PARA MACRÓFAGOS DOS TIPOS M1 E M2.....	35
7. DISCUSSÃO	37
8. CONCLUSÃO	49
9. REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

A cisplatina (diaminodicloroplatina, CP) é um agente quimioterápico bastante utilizado e eficaz para o tratamento de diversos tipos de tumores sólidos (Cohen *et al.*, 2001; Siddik, 2003). No entanto, a terapia com este quimioterápico está associada a vários efeitos colaterais tóxicos graves, incluindo nefrotoxicidade, neurotoxicidade, cardiotoxicidade e hepatotoxicidade (Cohen; Lippard, 2001; De Jongh *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005; Al Majed, 2007; Ghosh, 2019; Qu *et al.*, 2019; Leite *et al.*, 2021). Apesar da nefrotoxicidade ser o efeito tóxico mais grave e mais estudado, o fígado acumula quantidades expressivas de CP (Stewart *et al.*, 1982; Tothill *et al.*, 1992), sendo um órgão altamente suscetível às reações oxidativas devido ao seu papel central no metabolismo de drogas (Satapathy *et al.*, 2015). Logo, a hepatotoxicidade também representa um importante e considerável efeito adverso dose-limitante na prática clínica (Pratibha *et al.*, 2006; Dkhil *et al.*, 2013; Hassan *et al.*, 2020).

As lesões hepáticas induzidas por CP determinam importantes alterações na arquitetura tecidual, culminando em uma deterioração funcional destas células e consequentes alterações de parâmetros bioquímicos (Dkhil *et al.*, 2013; Afsar *et al.*, 2018; Hassan *et al.*, 2020). Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na hepatotoxicidade são complexos e ainda não estão totalmente esclarecidos. No entanto, evidências apontam para um papel fundamental de um estado pró-inflamatório local desregulado no desenvolvimento das lesões (Hassan *et al.*, 2020). Nesse sentido, estudos experimentais demonstram que tal processo inflamatório é caracterizado principalmente pela produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina (IL)-6 (Khedr *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2017), redução de citocina anti-inflamatórias, como a IL-10 (Omar *et al.*, 2016; Hassan *et al.*, 2020), e quimiotaxia de células imunes (Satapathy *et al.*, 2015). Um mecanismo potencial deflagrador desse estado pró-inflamatório é a ativação dos receptores do tipo Toll (TLR), tal qual o TLR4, o qual é conhecido por ativar a via do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (El-Shitany; Eid, 2017). A ativação deste importante fator de transcrição é crítica para o processo inflamatório local, uma vez que aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias, as quais podem ativar reciprocamente o NF- κ B, estabelecendo um ciclo vicioso de *feedback* positivo que culmina em progressão das lesões (Zhang *et al.*, 2008). Ademais, outras citocinas podem também regular positivamente o processo pró-inflamatório local, como a IL-8, a qual estimula o recrutamento leucocitário para o tecido hepático (Glass *et al.*, 2018), e a IL-1 α e IL-1 β , envolvidas, dentre outras funções, na diminuição dramática dos níveis do inibidor hepático kappa B (I κ B), promovendo assim ativação adicional de NF- κ B (Cavalli *et al.*, 2021).

Evidências indicam que a maioria das doenças hepáticas, incluindo injúria hepática aguda e injúria hepática induzida por medicamentos, sofrem grande influência dos hormônios gonadais, determinando um dimorfismo sexual fortemente afetado por fatores do estilo de vida (Xu *et al.*, 2022). Nesse sentido, embora o papel hepatoprotetor dos hormônios sexuais femininos sejam largamente demonstrados na literatura (Polyzos *et al.*, 2022; Galmés-Pascual *et al.*, 2020; Burra *et al.*, 2021), um fenômeno clínico preocupante é a maior gravidade de lesões teciduais no curso das doenças hepáticas alcoólica e autoimune (Wagnerberger *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2022), além de um risco aumentado para a injúria hepática induzida por drogas (Toyoda *et al.*, 2012) em mulheres quando comparadas aos homens. Adicionalmente, alguns estudos sugerem que a citotoxicidade induzida pela CP pode ser maior em ratas (Pezeshki *et al.*, 2013; Eshraghi-Jazi, Nematbakhsh, 2022), e também em mulheres (Chen *et al.*, 2017; Eshraghi-Jazi; Nematbakhsh, 2022), sugerindo que a citotoxicidade induzida por esse quimioterápico também pode sofrer influências do sexo.

Assim, a identificação de contramedidas visando prevenir ou atenuar os efeitos hepatotóxicos da CP, sem prejudicar sua ação terapêutica antitumoral, tem sido alvo de diversas pesquisas. No entanto, esses estudos foram realizados em machos, havendo uma grande escassez de estudos conduzidos em fêmeas. Estratégias não farmacológicas, como a prática de exercícios físicos regulares, têm sido amplamente investigadas e se mostrado promissoras na citoproteção no contexto de diversas condições patológicas (Mansour *et al.*, 2006; Kampshoff *et al.*, 2015; Barroso *et al.*, 2021). Nesse sentido, estudos experimentais demonstraram que o exercício aeróbico de baixa a moderada intensidade conferiu citoproteção em ratos com hepatotoxicidade induzida por nanopartículas de óxido de ferro (Vasili *et al.*, 2016) e em ratos com doença hepática gordurosa não-alcoólica (Kawanishi *et al.*, 2012). Não obstante alguns estudos mostrarem efeitos hepatoprotetores do exercício físico aeróbico moderado, há também uma grande escassez de trabalhos investigando os efeitos de diferentes intensidades de treinamento sobre a hepatoproteção. Recentemente, estudos conduzidos por nosso grupo de pesquisa demonstraram que o pré-condicionamento intervalado de alta intensidade (HIIT) promoveu maiores ações renoprotetoras quando comparado a exercícios aeróbicos tradicionais, modulando benéficamente os processos inflamatório (Leite *et al.*, 2021) e apoptótico (Oliveira *et al.*, 2023) em ratas com nefrotoxicidade induzida por CP. Contudo, até o momento, não foram encontrados estudos demonstrando os efeitos protetores do exercício, nem tão pouco o impacto da manipulação de suas variáveis, contra a hepatotoxicidade induzida por CP. Logo, o objetivo do presente estudo é comparar os efeitos do HIIT com treinamentos contínuos de intensidades leve (LIT) e moderada (MIT) sobre marcadores inflamatórios em ratas com

hepatotoxicidade induzida pela CP. Nossa hipótese baseia-se no pressuposto de que a manipulação de variáveis, como intensidade e modalidade, pode influenciar os efeitos hepatoprotetores neste modelo experimental através da atenuação do processo inflamatório local.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELA CISPLATINA

O fígado é um órgão amplamente importante com diversas funções vitais para o organismo, incluindo metabolismo nutricional, desintoxicação e metabolização de medicamentos, o que o torna altamente suscetível à essas reações oxidativas e lesões agudas, também chamadas de DILI (do inglês Drug-Induced Liver Injury) (Satapathy *et al.*, 2015). A DILI é um problema de saúde que vem crescendo a cada ano devido ao uso indevido ou excessivo de medicamentos, sendo considerada a quinta principal causa de morte relacionada à doença hepática, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Andrade *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2010; Hunt *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2016). Isso acontece pela presença de diversas enzimas e transportadores capazes de facilitar a entrada dos fármacos nos hepatócitos e gerar produtos metabolizados, os quais podem se acumular no fígado, promovendo as lesões estruturais e funcionais (Almazroo *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2010).

Nesse sentido, um desses vários medicamentos altamente comprometedores e que se acumulam no tecido hepático é a CP (Stewart *et al.*, 1982; Tothill *et al.*, 1992). A CP é um fármaco com ação antitumoral cuja descoberta ocorreu acidentalmente por Rosenberg em meados de 1965, e aprovado para uso pelo FDA (*American Food and Drug Administration*) em 1979 (Rosenberg *et al.*, 1965; Pinto; Lippard, 1985). Devido à sua ampla abrangência, a CP é bastante utilizada até os dias atuais no tratamento de diversos tipos de cânceres, como câncer de cabeça, pescoço, câncer de próstata, bexiga, ovário, pulmão, entre vários outros tipos de tumores sólidos (Cohen *et al.*, 2001; Siddik, 2003; Dasari *et al.*, 2014).

O efeito farmacológico da CP se dá através da sua entrada na célula através do transporte passivo pela diferença de concentração de íons cloro do meio extra em relação ao meio intracelular (Wang *et al.*, 2003; Fulco *et al.*, 2018), ou pelo transporte ativo através do transportador, como transportador de cátion orgânico 1 (OCT1), principal isoforma presente no fígado (Quintanilha *et al.*, 2017). A partir disso, a CP é capaz de se ligar a várias biomoléculas, mas o DNA é o principal alvo dessa droga. Dessa forma, o átomo central de platina interage com o DNA da célula para formar um complexo de reticulação, provocando a parada do ciclo celular e, conseqüentemente, a morte da célula (Eastman, 1986; Jamieson; Lippard, 1999; Jung; Lippard, 2007; Barabas *et al.*, 2008). Esse efeito antitumoral é ainda maior quando a droga é administrada em altas doses, contudo, a falta de seletividade favorece o desencadeamento de vários efeitos citotóxicos, incluindo nefrotoxicidade, cardiotoxicidade,

gastrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade e hepatotoxicidade (Cohen *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2005; De Jongh *et al.*, 2003; Hanigan *et al.*, 2003; Al Majed, 2007; Ghosh, 2019; Qu *et al.*, 2019).

Assim, embora a nefrotoxicidade seja o efeito adverso mais notável no curso do tratamento com CP (Kociba; Sleight, 1971; Uehara *et al.*, 2011), essa droga pode se difundir rapidamente em alguns tecidos, alcançando uma maior concentração no fígado (Quintanilha *et al.*, 2017). Diante disso, a hepatotoxicidade também é de grande relevância devido ao fato do tecido hepático acumular quantidades expressivas de CP, tanto em esquemas terapêuticos com repetidas baixas doses, quanto em tratamentos mais agressivos, no qual doses mais altas são necessárias para a supressão tumoral, o que o predispõe a lesões e limita o alcance de doses máximas terapêuticas (Quintanilha *et al.*, 2017; Pratibha *et al.*, 2006; Dkhil *et al.*, 2013; Hassan *et al.*, 2020).

A hepatotoxicidade induzida por CP é caracterizada por alterações histopatológicas, que incluem esteatose, necrose, degeneração dos hepatócitos, dilatação dos sinusóides, infiltração de células imunes no tecido (Quintanilha *et al.*, 2017; Oun *et al.*, 2018; Qi *et al.*, 2019), alterações citoplasmáticas em torno da veia central (Hesham *et al.*, 2013) e hepatócitos de tamanho e estrutura irregulares (Nasr *et al.*, 2013) em animais experimentais. Tais alterações são frequentemente acompanhadas por aumento dos níveis séricos de transaminases, como exemplo alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina sérica (ALP), as quais são marcadores de lesão hepática, além de alterações em parâmetros funcionais, como os níveis de albumina e bilirrubinas em animais experimentais (Ekinici *et al.*, 2017; Fulco *et al.*, 2018; Bano; Najam, 2019; Abassi *et al.*, 2020; Paunović *et al.*, 2020; Un *et al.*, 2020). Adicionalmente, também foram encontradas alterações nos níveis de colesterol, triglicerídeos e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Abdel-Gayoum; Ahmida, 2017; Afsar *et al.*, 2017; El-Gizawy *et al.*, 2020), o que leva ao aparecimento de esteatose, podendo evoluir para inflamação, fibrose tecidual e necrose (Afsar *et al.*, 2017). Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a essas lesões são bastante complexos e não tão bem esclarecidos. Contudo, estudos sugerem que o dano hepático está associado, principalmente, com as reações oxidativas através da geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) devido a interação da CP às enzimas do citocromo P450, principalmente da enzima CYP2E1, o qual promove a produção de oxidantes poderosos, como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (Martins *et al.*, 2008; Lu; Cederbaum, 2006; Quintanilha *et al.*, 2017). Tais lesões deflagram uma resposta imunológica pró-inflamatória capaz de exacerbar os danos e

disfunções aos hepatócitos através da ativação da via TLR4/NF- κ B (Yilmaz *et al.*, 2005; Chun *et al.*, 2009; Waseem *et al.*, 2015).

2.2 PROCESSO INFLAMATÓRIO NA INJÚRIA HEPÁTICA INDUZIDA PELA CISPLATINA

Os mecanismos fisiopatológicos evidentes no curso das toxicidades induzidas pela CP são, principalmente, a tríade composta pelo estresse oxidativo, a inflamação e a apoptose (Peres, Cunha, 2013; Oh *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2017; Alhoshani *et al.*, 2017). No que tange a hepatotoxicidade, os mecanismos de lesão ainda não estão totalmente claros, mas evidências apontam para mecanismos fisiopatológicos semelhantes aos reportados na injúria renal aguda (IRA) induzida pela CP. Nesse sentido, o estresse oxidativo é o principal mecanismo envolvido no início das lesões teciduais, uma vez que as principais medidas de prevenção dos danos tóxicos da CP são com compostos antioxidantes (Lu e Cederbaum, 2006). Contudo, o microambiente pró-oxidativo com acúmulo excessivo de ERO desencadeia a ativação de diversas vias pró-inflamatórias responsáveis pela progressão e agravamento das lesões (Rehman *et al.*, 2014). No tecido hepático a via mais estudada envolve a sinalização do TLR4/NF- κ B, cuja ativação leva a uma resposta pró-inflamatória, com produção de diversas citocinas e recrutamento de células imunes que estabelecem um ciclo auto-sustentável determinante na progressão da injúria tecidual (Al-Malki; Sayed, 2014; Yang *et al.*, 2012;).

Apesar de não serem claras todas as etapas de instalação e desenvolvimento da inflamação, evidências demonstram que a resposta imune inata inicia-se por meio da ativação do TLR4 (El-Shitany; Eid, 2017; Khedr *et al.*, 2020). Este receptor está associado no reconhecimento de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) nos tecidos lesados, com o objetivo de ativar o sistema imune (Kono; Rock, 2008). Desse modo, já foi demonstrado que as células, tanto parenquimatosas quanto as não parenquimatosas, do tecido hepático expressam TLR4 e que este está envolvido nas lesões causadas por diversos fatores, incluindo drogas como a CP (Guo, Friedman, 2010).

Um dos principais fatores ativados pela via de sinalização do TLR4 é o NF- κ B, o qual desempenha um papel importante na produção de diversos mediadores pró-inflamatórios (Zhang *et al.*, 2008). O NF- κ B é um fator de transcrição que comumente se refere ao heterodímero p50-p65, representando o principal complexo Rel/NF- κ B na maioria das células. Em condições basais, o NF- κ B encontra-se inativo no citoplasma ligado às proteínas inibidoras I κ B α e I κ B β . Na presença de um estímulo, estas proteínas inibidoras são rapidamente fosforiladas pelo complexo I κ B quinase (IKK), possibilitando a translocação do heterodímero

p65/p50 para o núcleo (Ghosh; Karin, 2002). Uma vez no núcleo, ambas isoformas ativam genes alvos que iniciam a produção de vários fatores envolvidos nas reações inflamatórias, como moléculas de adesão, quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, agravando assim as lesões hepatotóxicos da CP (Barnes *et al.*, 1997; El-Shitany *et al.*, 2017; Choi *et al.*, 2012). Nesse sentido, a ativação do TLR4 através de DAMPS desencadeia uma série de respostas moleculares intracelulares, ativando, por exemplo, fatores de transcrição como o gene de resposta primária de diferenciação-88 (MyD88), o qual promove interação do I κ B e as subunidades p65 e p50 do NF- κ B citoplasmático e nuclear, especificamente da subunidade p65 (Wang *et al.*, 2017; El-Shitany *et al.*, 2017). Assim, a sinalização do eixo TLR4/MyD88/NF- κ B promove a produção de uma série de mediadores inflamatórios, como TNF- α , IL-6, IL-1 β , MCP-1, dentre outros, as quais são determinantes para o desenvolvimento das lesões inflamatórias na hepatotoxicidade induzida por CP (El-Shitany *et al.*, 2017; Khedr *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2017).

Desse modo, o perfil de citocinas estabelecido pela CP no parênquima hepático é caracterizado pela elevação de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , IL-6 e IL-1 β , e redução da citocina anti-inflamatória IL-10 (Ingawale *et al.*, 2014). A IL-6 juntamente com o TNF- α , além de promover quimiotaxia de células imunes para o sítio da lesão, também são determinantes para a amplificação da resposta inflamatória tecidual através de um mecanismo de *feedback* positivo envolvendo a ativação do NF- κ B através da ligação do TNF- α ao receptor TNFR2, gerando uma resposta inflamatória robusta, a qual também é capaz de induzir a apoptose (Omar *et al.*, 2016; Satapathy *et al.*, 2015; Oun *et al.*, 2018; Abdel-Daim *et al.*, 2020).

A ligação TNF- α /TNFR2 ativando NF- κ B promove também a expressão das citocinas pró-inflamatórias, exacerbando o processo inflamatório (Al-Lamki; Mayadas., 2015). Wang *et al.* (2023) mostraram aumento da IL-8 em pacientes com insuficiência hepática aguda, levando a acreditar que níveis elevados de IL-8 estão relacionados com a lesão hepática e a gravidade da doença. Além disso, a ativação da IL-8 atua promovendo a quimiotaxia de células imunes, como os macrófagos e neutrófilos que atuam na amplificação da resposta imune (Zimmermann *et al.*, 2011). Assim, a IL-1 α e IL-1 β também estão envolvidas no curso das citotoxicidades induzidas pela CP (Lee *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2020). Apesar do mecanismo não estar totalmente claro, a IL-1 β pode estar envolvida na hepatotoxicidade por participar do processo necrótico, além da inflamação, cujo processo parece ser dependente de TNF- α . Já a IL-1 α , segundo Lee *et al.* (2011), atua como um mediador inflamatório na IRA induzida pela CP, sendo que ainda não há nenhum inibidor específico de IL-1 α , visto que sua ação é intracelular e, por isso, apresenta difícil inibição (Werman *et al.*, 2004). No entanto, uma citocina

reguladora da IL-1, a IL-1ra, aparenta ser um fator importante para inibir o mecanismo tanto da IL-1 β quanto da IL-1 α ao se ligar ao receptor da IL-1 (IL-1R) (Ishibe *et al.*, 2009). Apesar de ser escasso, em um modelo de doença hepática induzida por um iniciador tumoral, dietilnitrosamina, foi visto que a IL-1 α , via IL-1R, é um dos fatores envolvidos na ativação do NF- κ B através da ativação de IKK em células de Kupffer, ativando a via Myd88/NF- κ B (He, Karin, 2011; Maeda *et al.*, 2005; Sakurai *et al.*, 2008). No entanto, não há estudos que demonstrem o papel da IL-1 α na hepatotoxicidade pela CP.

Por outro lado, estudos demonstram que a CP tem a capacidade de reduzir citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, resultando na exacerbação da lesão hepática devido à perda da capacidade de regular a resposta inflamatória (Omar *et al.*, 2016; Hassan *et al.*, 2020). A IL-10 é uma citocina importante cuja interação com seu receptor (IL-10R) pode induzir diversas respostas celulares através de sinalizações específicas, incluindo a regulação do processo inflamatório e manutenção de importantes funções celulares (Sabat, 2010). Dentre as atividades da IL-10 na resposta imunológica, destacam-se a maturação de células T de memória, a autorregulação da função fagocitária dos macrófagos e a supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias (Fiorentino *et al.*, 1989; Couper *et al.*, 2008).

Ademais, evidências sugerem que tanto a imunidade inata quanto a adaptativa participam das lesões agudas desencadeadas pela CP, por meio do envolvimento de macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células T (Bonavia; Singbarti, 2018, Jang; Rabb, 2015). Os macrófagos ativados infiltrados no tecido hepático promovem, por sua vez, produção de ERO, TNF- α e citocinas pró-inflamatória, promovendo um *feedback* positivo e consequente agravamento das lesões (Rodríguez-Iturbe *et al.*, 2004; Akcay *et al.*, 2009). Na imunidade inata a presença de macrófagos é crucial, e em condições patológicas os macrófagos são recrutados para os tecidos lesionados podendo se polarizar em outros fenótipos, como M1 e M2 (Wang *et al.*, 2022). Essa capacidade de mudança de fenótipos dos macrófagos é chamada de polarização M1/M2, e a hepatotoxicidade pode ser avaliada com base nesse conceito de polarização, na qual os macrófagos se diferenciam entre os fenótipos M1 e M2 durante o desenvolvimento das lesões farmacotóxicas (Wijesundera *et al.*, 2014; Rahman *et al.*, 2018).

No tecido hepático há a presença de macrófagos residentes, chamados de células de Kupffer, os quais, em condições fisiológicas, apresentam-se distribuídos entre os fenótipos M1 (pró-inflamatório) e M2 (anti-inflamatório), cujo fenótipo M2 pode se diferenciar em M1 por meio de algum estímulo lesivo (Golbar *et al.*, 2012). Nesse sentido, sabe-se que os macrófagos M1 apresentam o antígeno CD68 e secretam grandes quantidades de iNOS (óxido nítrico sintase induzida), os quais são largamente utilizados como marcadores dessas células (Iwakiri,

2015). Em um micro-ambiente pró-inflamatório, os macrófagos do tipo M1 promovem lesão tecidual pelo fato de produzir citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como interferon-gama (IFN- γ), TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e MCP-1 (Martinez *et al.*, 2011; Pello *et al.*, 2011). Já os macrófagos do tipo M2 apresentam os antígenos CD163 e CD206 e secretam grandes quantidades de arginase 1 e 2, sendo que no tecido hepático a produção de arginase 1 é prevacente sobre a de arginase 2 (Jablonski *et al.*, 2015). Tais células estão relacionadas à resolução da inflamação e ao reparo tecidual através da produção de citocinas anti-inflamatórias, incluindo a IL-4, IL-10 e TGF- β 1 (Sica; Mantovani, 2012; Njoku *et al.*, 2009). Nesse sentido, estudos reportam que a via do TLR4/NF-kB é o ponto crucial para ativar os macrófagos do tipo M1, ao contrário dos macrófagos do tipo M2, que podem ser ativados através das citocinas anti-inflamatórias (Bonavia; Singbarti, 2018; Jang; Rabb, 2015; Rogers *et al.*, 2014). Ademais, estudos reportam que a polarização de macrófagos M1 está presente em diversos modelos de doenças hepáticas (Rahman *et al.* 2018; Wijesundera *et al.*, 2014). No entanto, a influência desse fenômeno na hepatotoxicidade induzida por CP ainda não foi amplamente demonstrada.

Nesta perspectiva, é notável que o processo inflamatório assume um papel de suma importância na progressão da lesão hepática causada pela CP, fazendo-se necessária a busca por uma melhor compreensão desses mecanismos com vistas à identificação de medidas terapêuticas que previnam ou atenuem a lesão inflamatória nesta condição.

2.3 INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS

O papel citoprotetor dos hormônios ovarianos é largamente demonstrado na literatura em diversos modelos experimentais, principalmente no contexto das doenças crônicas (Salerni *et al.*, 2015; Neugarten; Golestaneh, 2022; Burra *et al.*, 2021). A influência dos hormônios ovarianos sobre a citotoxicidade induzida pela CP ainda é bastante controversa. Em relação à hepatotoxicidade induzida pela CP, até onde sabemos, não existem estudos que mostram o papel dos hormônios sexuais femininos sobre essa condição. No entanto, evidências sugerem que pacientes do sexo feminino apresentam maior susceptibilidade a desenvolver lesões hepáticas farmacotóxicas (Amacher, 2014; Buzzetti *et al.*, 2017), uma vez que os hepatócitos de fêmeas são mais vulneráveis a vários agentes hepatotóxicos, e assim desenvolvem insuficiência hepática aguda com mais frequência e com maior risco de mortalidade comparadas com machos (Mennecozzi *et al.*, 2015; Weiler *et al.*, 2020). Além disso, o tecido hepático de fêmeas apresenta maior número de células de Kupffer, com mais receptores Toll-

Like e, conseqüentemente, maior atividade fagocitária (Marcos *et al.*, 2016). Sendo assim, Hazelhoff *et al.* (2018) observaram que ratas desenvolveram maior hepatotoxicidade induzida por mercúrio em relação a ratos.

De fato, a lesão hepática farmacotóxica parece apresentar relação importante com os hormônios sexuais, como os andrógenos, estrogênio e progesterona (Xu *et al.*, 2022). Nesse sentido, Grimbart *et al.* (1995) observaram que hormônios como estradiol e progesterona prejudicaram a respiração mitocondrial e a atividade de várias enzimas responsáveis por processos metabólicos importantes no fígado gorduroso de camundongos fêmeas prenhas, o que pode ter contribuído para aumentar ainda mais os efeitos hepatotóxicos da droga. Adicionalmente, a progesterona parece estar ligada a uma lesão hepática mais grave induzida por medicamentos, e tal fato pode estar relacionado à resposta imune induzida pela progesterona por meio das células de Kupffer (Xu *et al.*, 2022; Toyoda *et al.*, 2012). No entanto, evidências também reforçam a capacidade dos estrógenos de regular processos inflamatórios no fígado, suprimindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Polyzos *et al.*, 2022; Galmés-Pascual *et al.*, 2020). Ademais, esses hormônios também desempenham um efeito vasodilatador dos sinusóides hepáticos, o que contribui para melhorar o fluxo sanguíneo no tecido (Sakamoto *et al.*, 2005).

Apesar dessas evidências, ainda são escassos os estudos que demonstram a influência dos hormônios sexuais femininos sobre as lesões hepáticas agudas, e mais estudos são necessários para melhor compreender a relação entre os processos patológicos na presença de hormônios sexuais femininos, especificamente na hepatotoxicidade induzida pela CP. Ademais, alguns estudos vêm buscando terapias não farmacológicas para diminuir esses efeitos hepatotóxicos em sua maioria em machos, havendo uma grande escassez deste tipo de abordagem em fêmeas. Logo, é evidente a necessidade de mais estudos buscando identificar estratégias hepatoprotetoras contra agentes farmacotóxicos na presença dos hormônios sexuais femininos.

2.4 EFEITOS HEPATOPROTETORES DO TREINAMENTO AERÓBICO NA REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA LOCAL

2.4.1 Efeitos Anti-Inflamatórios Hepáticos do Treinamento de Intensidade Leve e Moderada

O exercício físico está associado a vários efeitos benéficos tanto para a performance física, quanto para o bom funcionamento fisiológico do organismo como um todo (Paffenbarger *et al.*, 1986; Blair, 2009). Ao contrário, um estilo de vida sedentário pode gerar

efeitos prejudiciais para a saúde de maneira geral, incluindo doenças crônicas como cardiovasculares, pulmonares e metabólicas (Sallis *et al.*, 2015; Thompson *et al.*, 2020), além de alguns tipos de cânceres (Kerr *et al.*, 2017; Friedenreich *et al.*, 2021). A literatura propõe vários mecanismos fisiológicos envolvidos nos efeitos citoprotetores do treinamento físico sobre diversos órgãos, especialmente o coração e músculo esquelético (Egan; Zierath, 2013; Cattadori *et al.*, 2018). No entanto, os benefícios do treinamento físico crônico, principalmente de intensidade moderada, podem alcançar diversos outros órgãos, inclusive o fígado, exercendo importantes efeitos hepatoprotetores, em parte, através da regulação da resposta imunológica local (Yu *et al.*, 2021; Jeong *et al.* 2015). Contudo, ainda são escassos os estudos explorando o impacto protetor do treinamento sobre condições agudas, especialmente sobre a hepatotoxicidade induzida por CP.

Mais uma vez, como o efeito adverso mais estudado deste quimioterápico é a nefrotoxicidade, alguns estudos observaram as ações anti-inflamatórias do treinamento moderado apenas sobre a injúria renal aguda. Nesse sentido, tais estudos demonstram que os principais mecanismos renoprotetores envolvidos incluem uma modulação benéfica das vias apoptóticas (Oliveira *et al.*, 2023), ações antioxidantes (Miyagi *et al.*, 2014) e a regulação do processo inflamatório (Miyagi *et al.*, 2014; Francescato *et al.*, 2018). À exemplo disso, Francescato *et al.* (2018) mostraram que o exercício moderado foi capaz de reduzir os níveis de IL-1 β , MCP-1 e a infiltração de macrófagos nas lesões renais induzidas por CP. Contudo, até onde sabemos, não há estudos investigando as ações anti-inflamatórias do exercício físico sobre a hepatotoxicidade induzida por CP. Encontramos apenas uma pequena carta editorial, na qual os autores reportaram que o treinamento de intensidade moderada reduziu os níveis séricos das enzimas AST, ALT e ALP tanto em machos, quanto em fêmeas (Zeynali *et al.*, 2016). Contudo, nenhum outro parâmetro ou mecanismos foram explorados.

Já no que diz respeito a outros modelos de lesões hepáticas agudas, Huber *et al.* (2017) mostraram que o exercício físico, por meio da corrida voluntária de intensidade moderada, modulou o processo inflamatório ao reduzir a expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e MCP-1, em um modelo de lesão hepática aguda induzida por N-galactosamina. Semelhantemente, em um modelo de lesão hepática aguda induzida por dietilnitrosamina, o exercício físico, por meio da corrida voluntária em intensidade moderada, foi capaz de atenuar a inflamação hepática através da redução de IL-6, IL-1 β e da expressão de MyD88 em ratos machos e fêmeas (Bay *et al.*, 2017). Ademais, Yazdani *et al.* (2021) observaram que o treinamento físico de intensidade moderada diminuiu a lesão hepática induzida pela isquemia-reperfusão em camundongos, modulando a resposta inflamatória

através de reduções da infiltração de neutrófilos e de moléculas de adesão que auxiliam na quimiotaxia de células imunes, além de induzir a polarização fenotípica de macrófagos anti-inflamatórios (M2).

Quanto aos efeitos anti-inflamatórios do treinamento moderado sobre modelos de doenças hepáticas crônicas, a literatura apresenta um corpo de evidências um pouco mais robusto. Nesse sentido, alguns estudos demonstraram especificamente o papel do exercício na diminuição do estresse oxidativo (Gomez Cabrera *et al.*, 2008; Cui *et al.*, 2017), inflamação (Linden *et al.*, 2016; Guarino *et al.*, 2020) e apoptose (Fealy *et al.*, 2012; Hajighasem *et al.*, 2018), além de atenuação na quantidade de gordura intra-hepática (Bacchi *et al.* 2013; Kawaguchi *et al.*, 2011) em animais experimentais. Assim, foi demonstrado que a prática a longo prazo de exercício aeróbico de intensidade leve a moderada apresenta capacidade de melhorar a função imunológica e recuperar as lesões teciduais na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em animais obesos (Diniz *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2020). Nesse sentido, Diniz *et al.* (2021) observaram que o treinamento moderado por 8 semanas foi eficaz em reduzir a expressão de diversas citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-10, MCP-1 e IL-6, propiciando uma melhora do quadro inflamatório local na DHGNA em camundongos obesos. Adicionalmente, Silva *et al.* (2020) também mostraram que o exercício físico reduziu os níveis de TNF- α e aumentou os níveis de IL-10 no tecido hepático em um modelo experimental de DHGNA. Assim, o treinamento físico é considerado como o primeiro método de prevenção e controle da DHGNA, visto que os níveis dos marcadores inflamatórios, lesões teciduais, o grau de esteatose e a resistência à insulina apresentam melhora significativa em pacientes que realizam exercício físico (Yu *et al.*, 2023; Yao *et al.*, 2018).

Embora os mecanismos moleculares relacionados à modulação dos níveis das citocinas inflamatórias pelo treinamento físico moderado não estejam totalmente claros, evidências apontam para uma modulação da via TLR4/MyD88/NF- κ B (Yu *et al.*, 2022). Nesse sentido, Zhu *et al.* (2021) observaram que o treinamento físico foi capaz de reduzir o processo inflamatório por um possível mecanismo de bloqueio da ligação do fator de diferenciação MD2 ao receptor TLR4, o que conseqüentemente reduziu a liberação da resposta inflamatória a jusante em camundongos portadores de DHGNA. Neste estudo, os autores demonstram que o bloqueio da via de sinalização dependente do TLR4 ocorreu devido à ligação da miocina irisina ao MD2, o que impediu a formação do complexo MD2-TLR4, fornecendo novas evidências de que a irisina induzida pelo exercício inibe a inflamação por meio da ligação competitiva com o MD2 para melhorar a DHGNA (Zhu *et al.* 2021).

A irisina é uma miocina produzida pelo músculo esquelético e secretada na circulação sanguínea em resposta ao exercício físico, podendo ser o ponto crucial para a proteção de órgãos à distância (Bostrom *et al.*, 2012). Nesse sentido, a literatura demonstra o papel da irisina como ponto-chave dos efeitos do exercício físico em diversas condições clínicas, como na lesão renal inflamatória (Formigari *et al.*, 2022), na DHGNA (Zhu *et al.*, 2022), na lesão hepática inflamatória após infarto do miocárdio (Wang *et al.*, 2023) e na lesão hepática inflamatória induzida por LPS (Li *et al.*, 2021). O mecanismo pela qual a irisina atua modulando o processo inflamatório nessas condições não é totalmente esclarecido. No entanto, Wang *et al.* (2023) observaram que a irisina modulou o processo inflamatório hepático induzido por infarto agudo do miocárdio através da via de sinalização PI3K/Akt nos hepatócitos. Ademais, na lesão inflamatória renal, a irisina, ao interagir com as células renais, ativa MAPK e, conseqüentemente, reduz a sinalização de NF- κ B e citocinas pró-inflamatórias a jusante, como TNF- α (Formigari *et al.*, 2022).

Em conjunto, as evidências apontam para um potencial efeito benéfico do exercício físico, principalmente de intensidade moderada, tanto sobre as doenças hepáticas crônicas, quanto em condições agudas. Contudo, ainda são necessários estudos que observem a influência de diferentes intensidades de treinamento sobre essas condições, visto que o volume, intensidade, frequência, duração e tipos de exercícios são variáveis que podem influenciar amplamente seus efeitos fisiológicos (Coffey *et al.*, 2007; Gibala *et al.*, 2012). Além disso, a maioria dos estudos encontrados foram conduzidos em machos, fazendo-se também necessárias tais investigações em fêmeas.

2.4.2 Efeitos Anti-Inflamatórios Hepáticos do HIIT

Embora seja bem estabelecido que o exercício físico de alta intensidade pode promover maior adaptabilidade muscular, rápida perda de peso, controle do apetite e maior oxidação de gordura (Boutcher, 2011), os efeitos da manipulação da intensidade e de outras variáveis do treinamento sobre a prevenção e manejo das doenças hepáticas ainda necessitam ser explorados. No entanto, alguns estudos recentes vêm demonstrando que a manipulação de algumas variáveis de treinamento, como modalidade, intensidade, volume e frequência, podem influenciar os efeitos protetores do exercício contra a nefrotoxicidade induzida por CP (Francescato *et al.*, 2018; Leite *et al.*, 2021; Almeida *et al.*, 2022).

Recentemente, vem surgindo um crescente interesse por conhecer os benefícios do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT- do inglês *hight intensity interval training*). O HIIT é caracterizado por breves períodos de treinamento em alta intensidade alternados por curtos intervalos de recuperação (Batacan *et al.*, 2017). Estudos sugerem que a prática regular de HIIT é associada a benefícios sobre a performance física e outros parâmetros fisiológicos (Batacan *et al.*, 2017; Sabag *et al.*, 2021), além de promover uma melhor adesão ao treinamento devido à economia de tempo (Gaesser; Angadi, 2011; Martland *et al.*, 2020). Ademais parece que esse tipo de treinamento é capaz de exercer maiores benefícios em algumas condições cardiorrespiratórias, no controle da glicemia e na sensibilidade à insulina, quando comparado com o exercício de intensidade moderada (Litte *et al.*, 2014; Jelleyman *et al.*, 2015).

No que diz respeito às lesões hepáticas agudas, incluindo a hepatotoxicidade induzida pela CP, não foram encontrados estudos avaliando os efeitos do HIIT sobre quaisquer parâmetros de função hepática, ou mecanismos fisiológicos hepatoprotetores. No entanto, recentemente estudos conduzidos por nosso grupo de pesquisa evidenciaram uma maior eficiência do HIIT em promover renoproteção contra os efeitos nefrotóxicos da CP. Nestes estudos foi demonstrado que o HIIT apresentou efeitos renoprotetores superiores quando comparado com as outras intensidades de treinamento aeróbico contínuo tanto no processo apoptótico (Oliveira *et al.*, 2023) quanto no processo inflamatório (Leite *et al.*, 2021). Leite *et al.* (2021) mostraram que o HIIT foi mais eficaz em preservar os parâmetros de função e estrutura renal, e reduzir os níveis renais de TNF- α , IL-6, IL-1 β e a infiltração de macrófagos em ratas com nefrotoxicidade induzida por CP. Interessantemente, esse mesmo estudo demonstrou que, em parte, a atenuação do processo inflamatório local se deu pela regulação da via TLR4/NF- κ B (Leite *et al.*, 2021). Ademais, Oliveira *et al.* (2023) mostraram que o HIIT foi capaz de diminuir os mediadores apoptóticos tanto da via intrínseca, quanto da via extrínseca, além de ter reduzido a expressão dos receptores do TNF- α (TNFR1 e TNFR2) e os níveis de IL-8 nesse mesmo modelo experimental. Logo, embora até o momento não haver evidências sobre a hepatotoxicidade, é possível aventar que tais efeitos do treinamento físico possam ser semelhantes na lesão hepática aguda induzida pela CP.

Já em relação ao manejo de doenças hepáticas crônicas, a literatura apresenta-nos algumas evidências de efeitos hepatoprotetores mediados pelo HIIT. Nesse sentido, um estudo demonstrou que os efeitos do HIIT foram mais evidentes em atenuar a progressão da DHGNA quando comparado ao exercício moderado (Fredrickson *et al.*, 2021). Os autores demonstraram que o HIIT foi capaz de diminuir a quantidade e ativação de macrófagos pró-inflamatórios no fígado, e, conseqüentemente, atenuar a liberação dos mediadores pró-inflamatórios. Além

disso, um outro estudo revelou que o exercício de alta intensidade promoveu efeitos positivos em reduzir o peso corporal, o peso do fígado, o acúmulo de lipídios hepáticos, e também foi capaz de atenuar a inflamação e a fibrose local em animais com DHGNA (Yu *et al.*, 2021). Os mecanismos pelos quais o HIIT desempenha seus efeitos anti-inflamatórios hepáticos ainda não estão totalmente esclarecidos, mas alguns estudos demonstram que esse protocolo de treinamento físico reduziu a expressão de INF γ , TNF α e IL-6, MCP-1, IL-10 e IL-4, bem como diminuiu a polarização de macrófagos pró-inflamatórios hepáticos (Fredrickson *et al.*, 2021; de Castro-de-Paiva *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022)

Desse modo, as evidências convergem para a hipótese de que o HIIT pode fornecer efeitos hepatoprotetores superiores a alguns protocolos de treinamento tradicionais, especialmente no contexto das doenças crônicas. Contudo, ainda são necessários estudos voltados para explorar o impacto do HIIT sobre a prevenção de insultos agudos, incluindo sobre a hepatotoxicidade induzida por CP, especialmente em fêmeas. Ademais, é de grande importância avançar nas investigações dos mecanismos moleculares de citoproteção do exercício físico que podem fazer frente aos principais mecanismos fisiopatológicos lesivos, como o processo inflamatório local. Assim, o presente estudo pode contribuir desvendando possíveis efeitos benéficos de três diferentes protocolos de treinamento físico aeróbico sobre marcadores inflamatórios da hepatotoxicidade induzida por CP em ratas *wistar*.

3. JUSTIFICATIVA

O câncer é um problema mundial de saúde pública, sendo responsável por mais de sete milhões de óbitos ao ano, o que representa cerca de 12% das causas de morte mundiais (INCA, 2021). A quimioterapia é uma das estratégias terapêuticas mais empregadas no tratamento da doença, contudo os efeitos citotóxicos decorrentes do uso de vários tipos de quimioterápicos, inclusive a CP, impõem uma importante limitação clínica ao tratamento antitumoral (Wang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006; Qu *et al.*, 2019).

As estratégias terapêuticas farmacológicas disponíveis para atenuar a citotoxicidade visam sobretudo reduzir a injúria renal aguda induzida pela CP (Launay-Vacher *et al.*, 2008). Contudo, além desses recursos serem ainda muito limitados, apresentam como principal desvantagem a redução das propriedades antineoplásicas da droga (Oh *et al.*, 2014; Manohar; Leung, 2018). Assim, recentemente a comunidade científica vem concentrando esforços na identificação de abordagens não-farmacológica, incluindo mudanças de hábitos, como a prática regular de exercícios físicos, no intuito de alcançar maiores doses terapêuticas de forma segura no combate ao câncer (Kampshoff *et al.*, 2015; Barroso *et al.*, 2021).

Nesse sentido, a prática de exercício físico regular é amplamente reconhecida como integrante de um estilo de vida saudável, e é parte fundamental do manejo e reabilitação de pacientes com diversos tipos de doenças crônicas (Sallis *et al.*, 2015; Thompson *et al.*, 2020). Contudo, ainda é necessário compreender o impacto do treinamento físico e da manipulação de suas variáveis, tal qual a intensidade, no tratamento e prevenção de eventos agudos, incluindo a hepatotoxicidade induzida por CP. Ademais, a escassez de estudos com fêmeas tem dificultado bastante a compreensão da relação entre exercício e a citotoxicidade na presença dos hormônios sexuais femininos, tornando os mecanismos subjacentes a esses processos ainda muito pouco esclarecidos.

Nesta perspectiva, a padronização de um modelo experimental que possa mimetizar as condições observadas em seres humanos, sobretudo em mulheres sob tratamento com CP e a prática de exercício físico, é de grande importância para analisar os mecanismos que suportam a relação existente entre o pré-condicionamento físico e a hepatotoxicidade na presença dos hormônios sexuais femininos. Ademais, esse modelo também poderá fundamentar futuras pesquisas visando a identificação de potenciais estratégias terapêuticas que concorram para a prevenção/atenuação da citotoxicidade e melhoria da qualidade de vida de pacientes sob quimioterapias.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos entre o pré-condicionamento físico com o Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) e treinamentos contínuos de intensidade leve (LIT) e moderada (MIT) sobre a expressão de marcadores inflamatórios na hepatotoxicidade induzida por cisplatina (CP) em ratas Wistar.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os efeitos dos três protocolos de treinamento físico sobre os níveis hepáticos das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6 IL-1 β , IL-1 α e IL-8;
- Analisar os efeitos dos três protocolos de exercício físico sobre os níveis hepáticos da citocina anti-inflamatória IL-10 nesses animais;
- Avaliar o impacto dos protocolos de exercício sobre a infiltração de macrófagos no tecido hepático desses animais;
- Caracterizar a polarização fenotípica entre os subtipos de macrófagos pró-inflamatório (M1) e anti-inflamatório (M2);
- Analisar os efeitos dos três protocolos de exercício físico sobre a ativação da via de sinalização TLR4/NF- κ B no tecido hepático desse modelo experimental.

5. METODOLOGIA

5.1. ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Quarenta ratas Wistar, pesando 190–220g, com 10 semanas de idade, foram mantidas em condições ambientais controladas (ciclo claro/escuro de 12/12 h; 23±2°C) com livre acesso a água e ração. As ratas foram aleatoriamente divididas em cinco grupos (n=7 cada): controle salino e sedentárias (C+S); cisplatina e sedentárias (CP+S); cisplatina e submetidas ao treinamento contínuo de intensidade leve (CP+LIT); cisplatina e submetidas ao treinamento contínuo de intensidade moderada (CP+MIT), e cisplatina e submetidas ao HIIT (CP+HIIT). Os treinamentos foram realizados por meio de corrida em esteira motorizada por 08 semanas antes da injeção de CP. Após 48h da última sessão de treinamento, os animais receberam uma dose única de CP (5mg/kg, i.p.) (Do Amaral *et al.* 2008; Francescato *et al.*, 2018), ou volume pareado de solução salina. Sete dias após a injeção, os animais foram eutanasiados por decapitação para coleta do fígado. O ciclo estral foi analisado durante a primeira e última semana do experimento, sendo constatado que todas as ratas estavam ciclando normalmente.

De acordo com a literatura, a mortalidade do modelo experimental de citotoxicidade induzida por CP é dose dependente (Tsang; Al-Fayea; Au, 2021). Em ratos wistar, a administração de doses até 7,5mg/kg é associada a uma baixa mortalidade (Khosravi *et al.*, 2021). Assim, o tamanho amostral do presente estudo foi determinado com base em estudos prévios da área (Francescato *et al.*, 2018), amparado também pelo estudo de Sampaio (2007) que demonstrou o seguinte cálculo: onde o número de animais por tratamento (n) = (t.SD/IC)², com valor de t= Z para intervalo de confiança de 95%; SD= desvio padrão; IC= intervalo de confiança da variável. Em nosso estudo, foi observada uma mortalidade de aproximadamente 10%.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal da Bahia - Instituto Multidisciplinar de Saúde (protocolo 056/2018), e está representado na figura 1. Os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com as recomendações do *National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Council, 2011).

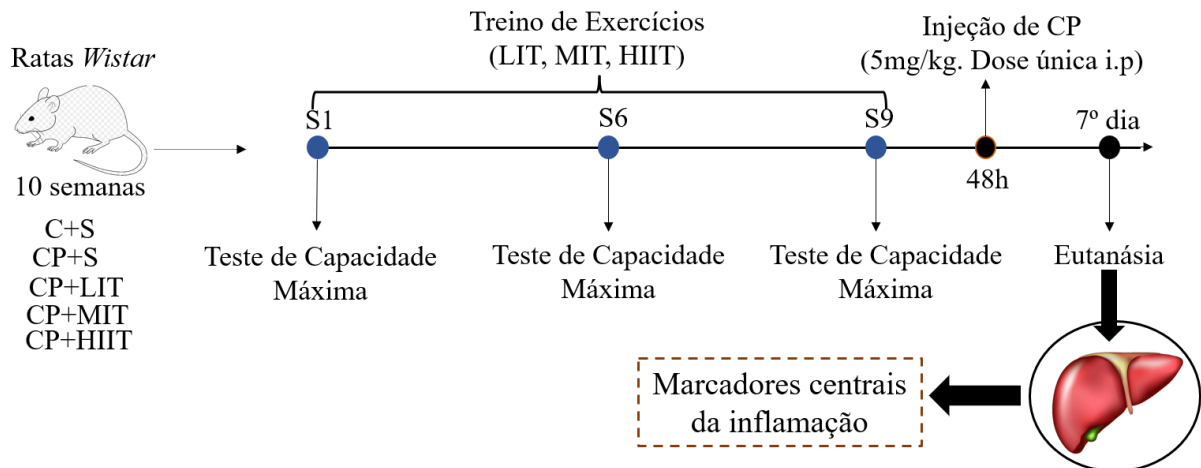


FIGURA 1- Protocolo experimental. Ratos *Wistar* com 10 semanas foram divididas em 5 grupos: controle salino e sedentárias (C+S); cisplatina e sedentárias (CP+S); cisplatina e submetidas ao treinamento contínuo de intensidade leve (CP+LIT); cisplatina e submetidas ao treinamento contínuo de intensidade moderada (CP+MIT), e cisplatina e submetidas ao treinamento intervalado de alta intensidade (CP+HIIT). Os testes de corrida máxima foram realizados nas semanas 1, 6 e 9. Os protocolos de treinamento seguiram por 9 semanas para os grupos LIT, MIT e HIIT. Após 48h da última sessão de treinamento, foi administrado uma dose única de injeção de cisplatina (CP) ou de solução salina. Sete dias depois da administração de CP, os animais foram eutanasiados para a coleta do fígado.

5.2 TESTE DE CORRIDA MÁXIMA

Todos os animais passaram por um período de ambientação no biotério durante uma semana, seguido por um período de aclimação na esteira. Posteriormente, testes de corrida máxima foram realizados na 1^a, 6^a e 9^a semanas com o objetivo de avaliar o desempenho físico e determinar a intensidade do treinamento para cada animal. Os testes de corrida máxima foram realizados em três dias alternados com a esteira inclinada em 10°, onde os animais permaneceram na esteira parada por 5 minutos e, posteriormente, a velocidade foi aumentada em 1 m/min a cada 6 segundos, até que atingisse a velocidade de 10 m/min. Em seguida, o tempo era disparado e a velocidade aumentada em 3 m/min a cada 2 minutos até que o animal atingisse a exaustão. A exaustão do animal, por sua vez, foi presumida pela parada da corrida na esteira em movimento por 3 vezes por 2 segundos no tempo de 1 minuto, ou quando o animal permanecesse parado na esteira em movimento por 10 segundos consecutivos (Leite *et al.*, 2021).

5.3. PROTOCOLOS DE TREINAMENTOS AERÓBICOS

Quarenta e oito horas após o primeiro teste de corrida máxima, os protocolos de treinamentos foram iniciados, os quais consistiram de sessões de corrida em esteira motorizada a 10° de inclinação, 5 dias por semana, durante 8 semanas, com velocidades ajustadas de acordo com os resultados do teste de corrida máxima. Assim, o LIT ocorreu com intensidade de 45%

a 50% da capacidade máxima, o MIT com intensidade de 55% a 70% da capacidade máxima, já o HIIT consistiu em ciclos de corrida intervalada à 85% da capacidade do animal, onde cada ciclo foi constituído de 2 min de corrida e 1 min de repouso passivo. Mais detalhes sobre esses protocolos de treinamento foram previamente descritos por Leite *et al.* (2021), e estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Protocolos de treinamento LIT, MIT e HIIT.

Treinamento	Variável	Semanas								
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a
LIT 45~50% da capacidade máxima	Velocidade (m/min)	x	15	17	17	17	x	22	22	x
	Duração (min)	x	31	31	37	40	x	46	46	x
MIT 55~70% da capacidade máxima	Velocidade (m/min)	x	19	21	23	24	x	28	28	x
	Duração (min)	x	31	31	37	40	x	46	46	x
HIIT ~85% da capacidade máxima	Ciclos (unidades)	x	7	7	9	10	x	12	12	x
	Velocidade (m/min)	x	28	31	34	37	x	38	42	x
	Duração (min)	x	31	31	37	40	x	46	46	x

1^aS-9^aS, 1^a a 9^a Semana; LIT, treinamento contínuo de intensidade leve; MIT, treinamento contínuo de intensidade moderada; HIIT, treinamento intervalado de alta intensidade; x, teste de esforço.

5.3. EXTRAÇÃO DE RNA E PCR QUANTITATIVO EM TEMPO REAL

Após a eutanásia, o tecido hepático foi imediatamente criogenizado em nitrogênio líquido e armazenado a -80°C. Foram analisadas as expressões gênicas de NF-κB, TNF-α, IL-6, IL-1β, IL-10, TLR4, M1 (iNOS) e M2 (arginase 1) por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real. O RNA total foi isolado por meio do kit comercial RNeasy Mini (Qiagen, Germantown, MD) de acordo com o protocolo do fabricante, e as concentrações de RNA foram determinadas por NanoDrop (Thermo Scientific, EUA). A síntese de cDNA foi

realizada usando o High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA). A expressão do genes de interesse foi analisada em duplicata para cada amostra, usando os seguintes Ensaio de Expressão Gênica TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA): NF- κ B (assay ID: Rn01399572_m1), TLR4 (assay ID: Rn00569848_m1), TNF- α (ID: Rn01525859_g1), IL-6 (ID: Rn01410330_m1), IL-1 β (ID: Rn00580432_m1), IL-10 (ID: Rn01483988_g1), iNOS (NOS2) (ID: Rn00561646_m1), arginase 1 (ID: Rn00691090_m1). O gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) (ID: Rn99999916_s1) foi utilizado como um controle interno. Os dados da qPCR foram desenvolvidos usando o sistema de detecção de sequência ABI Prism 7300 (Applied Biosystems). A expressão relativa (*fold change*) foi determinada pelo método comparativo ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) a partir dos valores médios de Ct (*cycle threshold*) (Livak; Schmittgen, 2001).

5.4. ENSAIO DE IMUNOABSORÇÃO ENZIMÁTICA (ELISA)

Fragments congelados do tecido hepático foram homogeneizados em tampão fosfato-salino (PBS) estéril, pH 7,4, liofilizados e posteriormente ressuspensos em PBS (Leite *et al.*, 2021). Alíquotas do sobrenadante foram obtidas através da centrifugação (10.000rpm por 10min), e a concentração da proteína total foi determinada pelo método de *Bradford*. Foram analisados os níveis das citocinas inflamatórias em duplicata utilizando os seguintes kits comerciais: TNF- α (BMS622), IL-1 α (BMS627), IL-1 β (BMS630), IL-6 (BMS625), IL-10 (BMS629) (Invitrogen, Vienna, Austria) e IL-8 (MBS8807286) (MyBioSource, San Diego, USA), seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, imunoplaquetas de microtitulação de 96 poços de poliestireno foram sensibilizadas com anticorpos de captura durante uma noite. Após a lavagem, as amostras diluídas e a solução padrão foram distribuídas em cada placa. As placas foram lavadas e incubadas com anticorpos de detecção, e em seguida lavadas e incubadas com solução de substrato. Após a incubação, a densidade óptica foi medida usando um leitor de ELISA em comprimento de onda específico. Os níveis hepáticos das citocinas foram expressos como picograma de citocina por miligrama de proteína (pg/mg de proteína).

5.5. ESTUDOS DE IMUNO-HISTOQUÍMICA

Para realizar a técnica de imuno-histoquímica, foram feitos cortes histológicos do tecido hepático em uma espessura de 4 μ m. Esses cortes foram desparafinizados com xilol, hidratados em etanol e submetidos à recuperação antigênica mediante a incubação em tampão

citrato ou TRIS-EDTA. As ligações com proteínas inespecíficas foram bloqueadas com solução de soro de cavalo (20%) (Vectastain Elite ABC-HRP Kit, PK-7200 – Vector Laboratories) por 30 min, e então incubadas por 1 hora, à temperatura ambiente, com anticorpo monoclonal anti-ED1 (1:1000), [lf5] ou durante a noite a 4°C com anticorpo policlonal anti-NF-κB (p65) (1:100). Posteriormente, para bloqueio das peroxidases endógenas, as secções foram incubadas em uma solução contendo azida sódica (0,1%) e H₂O₂(0,3%) por 20 min, seguidas de incubação com anticorpo secundário biotilado (Vectastain Elite ABC-HRP Kit, PK-7200 – Vector Laboratories) por 60 min. Os produtos das reações foram detectados pela incubação com o complexo avidina-biotina-peroxidase (Vectastain Elite ABC-HRP Kit, PK-7200 – Vector Laboratories, CA, USA). As proteínas foram detectadas utilizando 3,3-diaminobenzidina (Metal Enhanced DAB Substrate Kit, 34065, Thermo Scientific, CA, USA). Por fim, os cortes foram contra-corados com hematoxilina, desidratados e montados. Para avaliar a imunorreatividade do NF-κB, foram produzidas microfotografias de 30 campos microscópicos (amplificação 200 vezes) (Olympus BX51 – Japão) (0,245 mm²) de cada animal através de uma câmara acoplada. As proporções das áreas positivamente marcadas foram determinadas pelo limite de cor usando o software Image J (National Institutes of Health, EUA), e expressas como porcentagens. A avaliação da imunorreatividade do ED-1 foi realizada pela contagem de células positivas em 30 campos microscópicos (0,245 mm²) (amplificação 200 vezes) também através do software Image J (Amaral *et al.*, 2014).

5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o programa GraphPad Prism 5. Foram utilizados o teste de kolmogorov-smirnov para avaliar a normalidade de distribuição dos dados e o teste de Bartlett para analisar a homogeneidade das variâncias. Constatada a normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, foram utilizados os testes *t students*, para comparações entre os grupos C+S e CP+S, e ANOVA One Way, seguido pelo teste de comparações múltiplas Newman-Keuls para comparações entre os grupos tratados com CP. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média (DP). A significância estatística foi determinada em $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE A EXPRESSÃO DE NF- κ B E TLR4

As expressões de NF- κ B por imuno-histoquímica (Figura 2) e qPCR (Figura 3A) revelaram-se maiores no tecido hepático dos animais do grupo CP+S em relação ao grupo controle ($p<0,05$). Contudo, embora todos os protocolos de treinamento tenham sido eficazes em reduzir esse efeito, o HIIT demonstrou efeitos superiores quando comparado aos grupos CP+LIT e CP+MIT ($p<0,05$). Semelhantemente, a expressão gênica de TLR4 mostrou-se aumentada no grupo CP+S em relação ao grupo C+S ($p<0,05$), contudo todos os protocolos de treinamento, especialmente o HIIT em relação ao LIT e MIT ($p<0,05$), foram capazes de diminuir esse efeito ($p<0,05$) (Figura 3B).

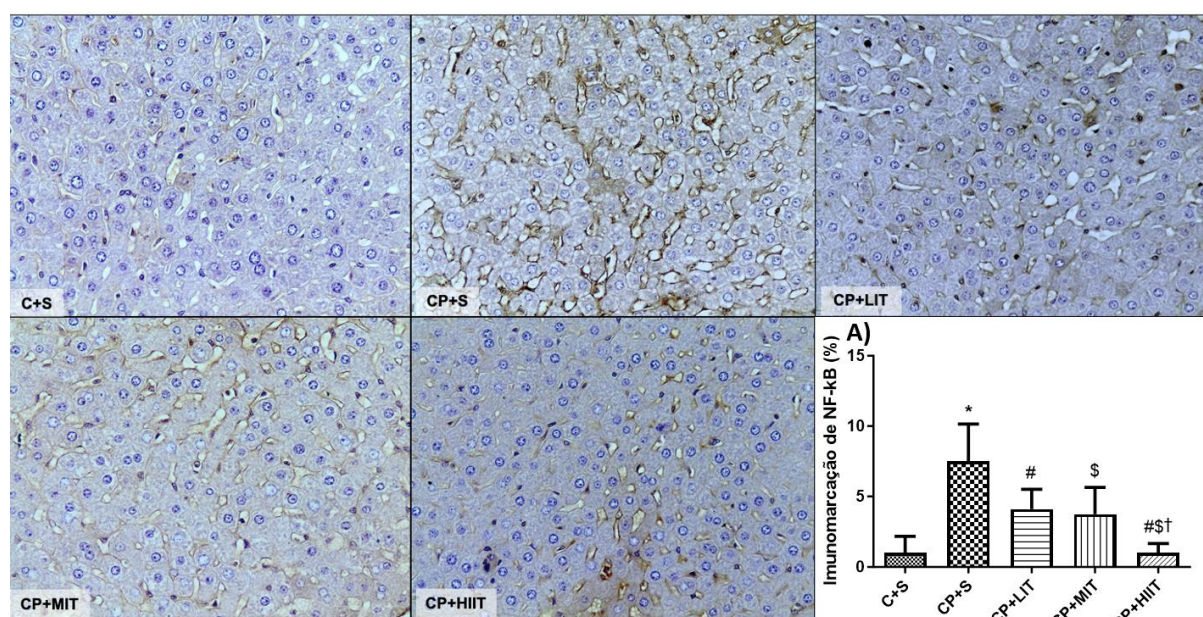


Figura 2 - Microfotografias representativas e quantifica o (A) da imunomarca o (acastanhada) para NF- κ B no tecido hepático de ratos controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT) (amplia o de 200x). Observe a imunomarca o mais intensa no CP+S e redu o da imunomarca o no grupo CP+HIIT. Os dados estão representados como média \pm DP. * $p<0,05$ versus C+S; # $p<0,05$ versus CP+S; \$ $p<0,05$ versus CP+LIT; † $p<0,05$ versus CP+MIT.

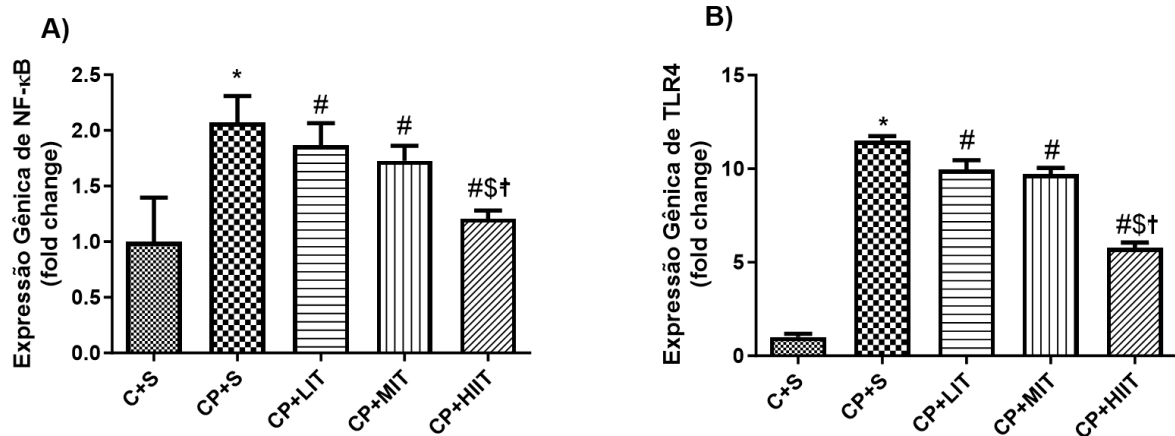


Figura 3. Expressão gênica de NF- κ B (A) e TLR4 (B) no tecido hepático de ratos controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT). Os dados estão representados como média \pm DP. . * $p < 0,05$ versus C+S; # $p < 0,05$ versus CP+S; \$ $p < 0,05$ versus CP+LIT; † $p < 0,05$ versus CP+MIT.

6.2 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE OS NÍVEIS DAS CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS (TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8)

A injeção de CP promoveu aumento das expressões gênica e proteica de TNF- α (Figuras 4A e 4B, respectivamente), IL-6 (Figura 4C e 4D, respectivamente) e IL-1 β (Figura 4E e 4F, respectivamente) em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), contudo o HIIT foi o único protocolo de treinamento capaz de atenuar as expressões dessas citocinas em relação a todos os grupos tratados com CP ($p < 0,05$). Semelhantemente, o pré-condicionamento com o HIIT foi o único protocolo de treinamento capaz de atenuar a expressão proteica de IL-1 α em relação ao grupo CP+S ($p < 0,05$) (Figura 4G), ao passo que o MIT e especialmente o HIIT reduziram os níveis de IL-8 em relação ao grupo CP+S ($p < 0,05$) (Figura 4H).

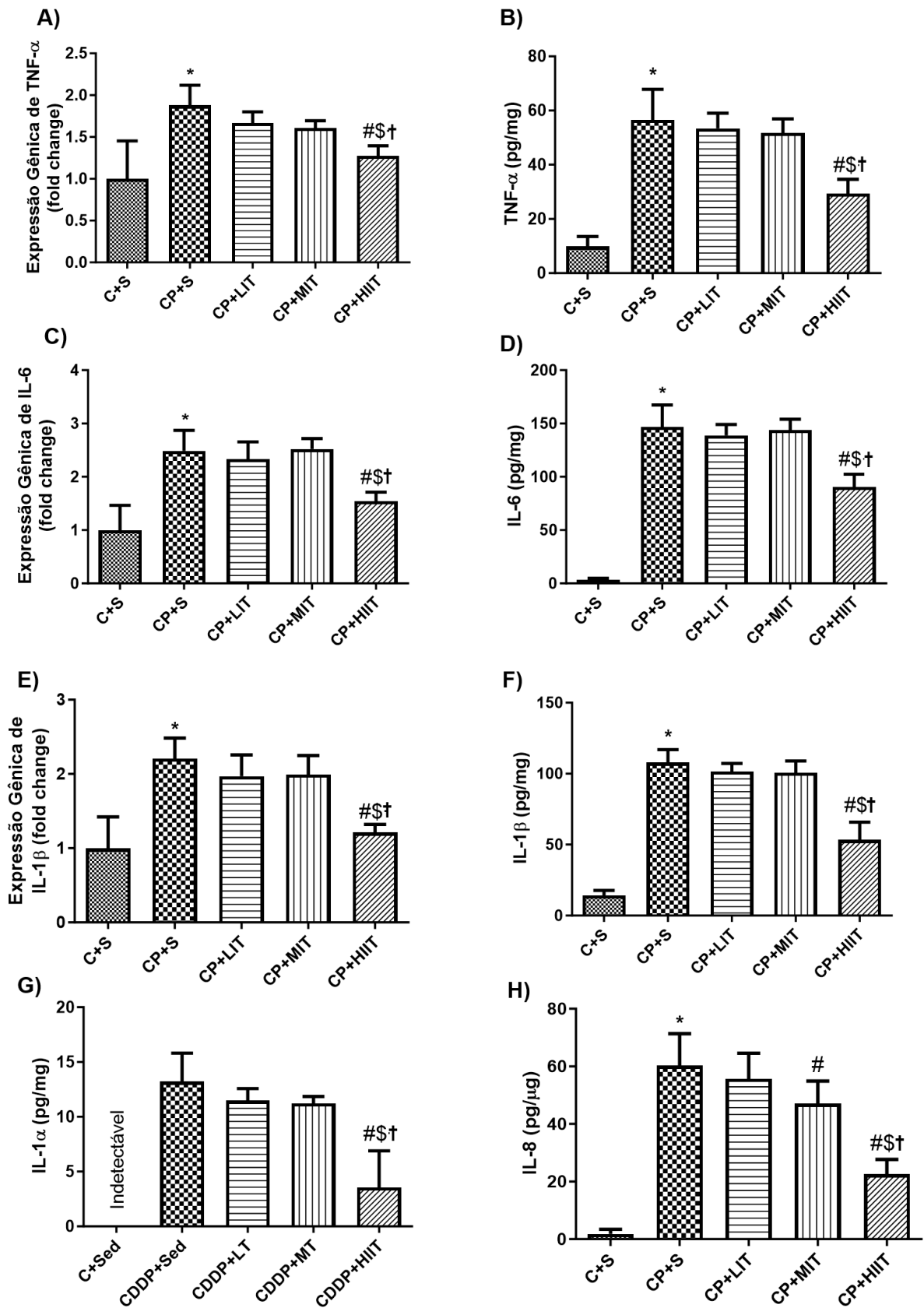


Figura 4. Expressão gênica e proteica de TNF- α (A e B), IL-6 (C e D), IL-1 β (E e F), e expressão proteica de IL-1 α (G) e IL-8 (H) no tecido hepático de ratas controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT). Os dados estão representados como média \pm DP. * p <0,05 versus C+S; # p <0,05 versus CP+S; $\dagger p$ <0,05 versus CP+LIT; $\ddagger p$ <0,05 versus CP+MIT.

6.3 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE OS NÍVEIS DE IL-10 E RAZÃO TNF- α /IL-10

Os nossos dados demonstraram que o tratamento com CP elevou as expressões gênicas e proteicas de IL-10 (Figuras 5A e 5B, respectivamente) e a razão TNF- α /IL-10 (Figura 5C) no grupo CP+S em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). No entanto, o HIIT foi o único protocolo de treinamento capaz de aumentar ainda mais a expressão de IL-10 e reduzir a razão TNF- α /IL-10 quando comparado com os demais protocolos de treinamentos ($p < 0,05$).

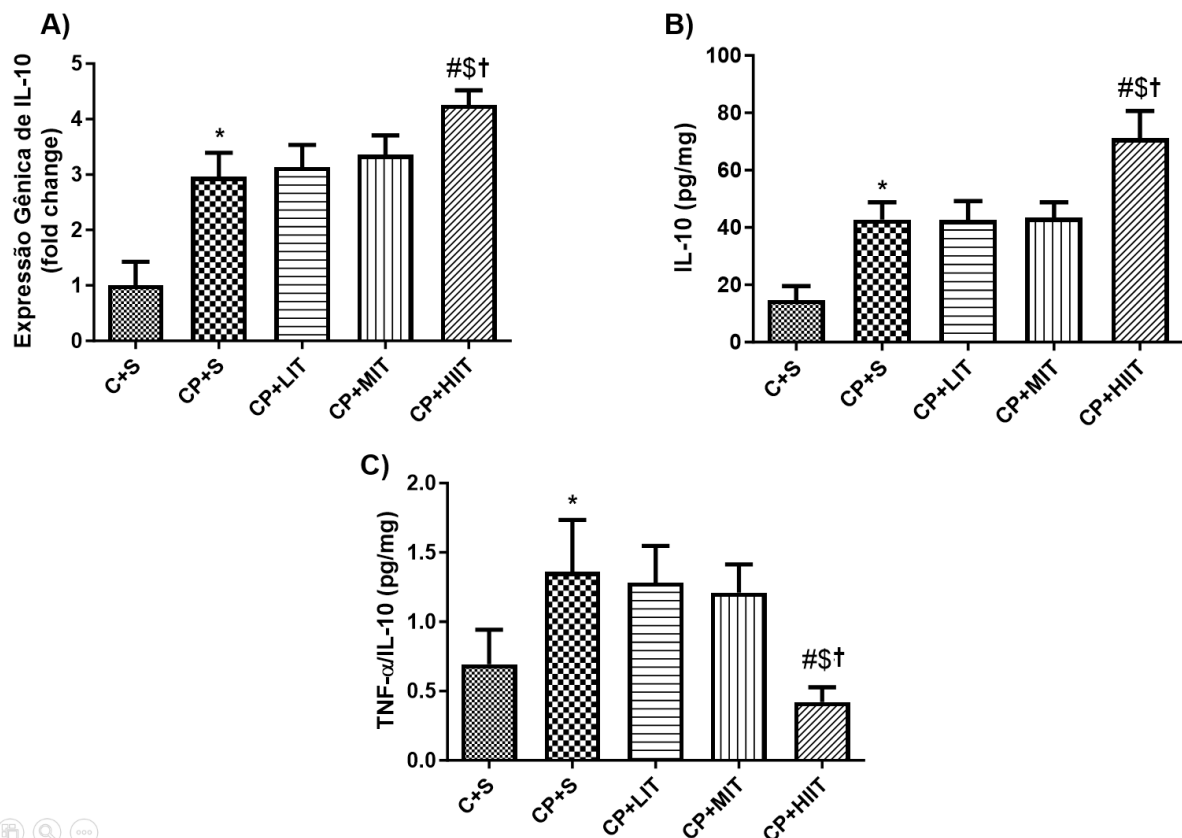


Figura 5 – Expressões gênica e proteica de IL-10 (A e B, respectivamente) e razão entre as expressões proteicas de TNF- α /IL-10 (C) no tecido hepático de ratos controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT). Os dados estão representados como média \pm DP. * $p < 0,05$ versus C+S; # $p < 0,05$ versus CP+S; \$ $p < 0,05$ versus CP+LIT; † $p < 0,05$ versus CP+MIT.

6.4 EFEITOS DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO SOBRE A IMUNOMARCAÇÃO DE CÉLULAS DE KUPFFER

O tratamento com CP provocou um aumento da imunomarcação para células de Kupffer (células ED-1 positivas) no tecido hepático de animais do grupo CP+S quando comparados ao grupo controle ($p < 0,05$) (Figura 6). Porém, o HIIT foi o único protocolo de treinamento capaz de prevenir esse efeito em relação ao grupo CP+S ($p < 0,05$).

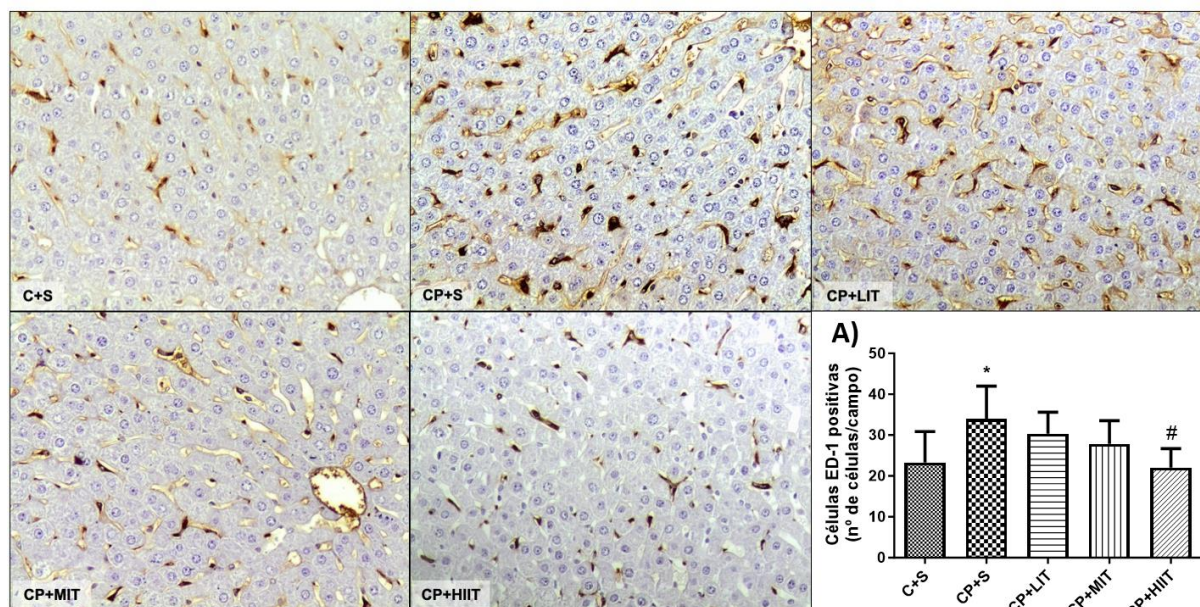


Figura 6- Microfotografias representativas e quantificação (A) da imunomarcação (acastanhada) para ED-1 no tecido hepático de ratos controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT) (ampliação de 200x). Observe na imunomarcação a redução da imunomarcação no grupo CP+HIIT. Os dados estão representados como média \pm DP. * $p < 0,05$ versus C+S; # $p < 0,05$ versus CP+S.

6.5 EFEITOS DOS PROTOCOLOS DE TREINAMENTO SOBRE AS EXPRESSÕES GÊNICAS DE MARCADORES PARA MACRÓFAGOS DOS TIPOS M1 E M2

O tratamento com CP aumentou consideravelmente as expressões dos marcadores para macrófagos do tipo M1 (iNOS) e M2 (arginase 1) no grupo CP+S quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). No entanto, o pré-condicionamento com o HIIT foi o único protocolo de treinamento capaz de diminuir a expressão de M1 (Figura 7A), ao passo que aumentou ainda mais a expressão de M2 (Figura 7B) em relação ao grupo CP+S ($p < 0,05$). Quanto à razão dos marcadores de macrófago M1/M2 (Figura 7C), os dados demonstram uma tendência, sem significância estatística, ao aumento no grupo CP+S em relação ao controle. No entanto, todos os protocolos de treinamento promoveram uma redução desse parâmetro em relação ao grupo

CP+S, ao passo que tal efeito foi ainda maior no grupo CP+HIIT em relação aos demais grupos treinados.

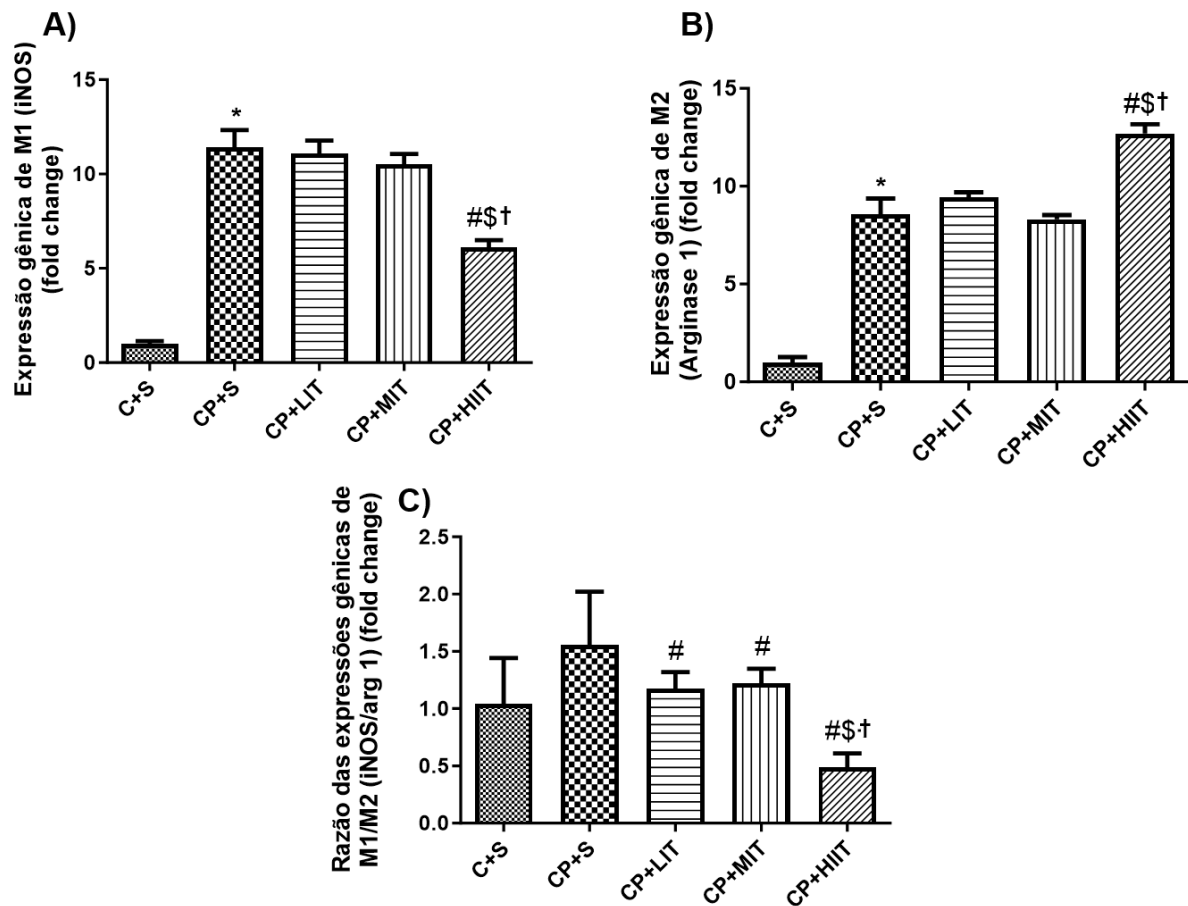


Figura 7. Expressão gênica de marcadores para macrófagos do tipo M1 (iNOS) (A), M2 (arginase 1) (B) e razão M1/M2 (iNOS/arginase 1) (C) no tecido hepático de ratos controle sedentárias (C+S), cisplatina sedentárias (CP+S), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de leve intensidade (CP+LIT), cisplatina submetido ao treinamento contínuo de moderada intensidade (CP+MIT) e cisplatina submetido ao HIIT (CP+HIIT). Os dados estão representados como média±DP. * $p < 0,05$ versus C+S; # $p < 0,05$ versus CP+S; § $p < 0,05$ versus CP+LIT; † $p < 0,05$ versus CP+MIT.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo é pioneiro, até onde sabemos, na investigação dos possíveis mecanismos moleculares subjacentes à hepatoproteção conferida pelo pré-condicionamento com treinamentos aeróbicos de intensidades leve, moderada e o HIIT em ratas com hepatotoxicidade induzida pela CP. Desse modo, nossos principais achados sugerem que o HIIT foi mais eficaz em promover efeitos hepatoprotetores quando comparado aos treinamentos leve e moderado, regulando benéficamente importantes mediadores do processo inflamatório no tecido hepático desses animais. Além disso, apesar dos mecanismos envolvidos nesta regulação não estarem totalmente esclarecidos, os dados deste estudo apontam para uma modulação da via de sinalização TLR4/NF- κ B pelo treinamento, a qual pode ter contribuído, pelo menos em parte, para a redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, aumento da citocina anti-inflamatória IL-10, menor infiltração de células imunes e maior polarização fenotípica de macrófagos M2 no tecido hepático dos animais pré-condicionados com o HIIT.

Nossos dados demonstram que a CP promoveu aumentos da imunomarcagem e expressão gênica hepática de NF- κ B no grupo CP+S, ao passo que todos os protocolos de treinamento foram capazes de atenuar a expressão desse fator de transcrição. No entanto, tal efeito foi ainda mais acentuado nos animais pré-condicionados com o HIIT em relação aos demais grupos. Estudos anteriores demonstraram que o NF- κ B é um fator de transcrição que desempenha uma ação importante na ativação de genes que elevam a expressão de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores envolvidos na resposta imune local em ratos com hepatotoxicidade induzida por CP, sugerindo que este fator atua de modo fundamental na indução das lesões hepáticas nesses animais (El-Shitany; Eid, 2017; Hagar *et al.*, 2019). Embora não esteja totalmente esclarecido, estudos reportam que a ativação exacerbada de NF- κ B neste modelo experimental pode ser decorrente tanto da ação direta das ERO (Al-Malki *et al.*, 2014; Rehman *et al.*, 2014), quanto da ação de citocinas pró-inflamatórias, principalmente através da ligação do TNF- α ao seu receptor de membrana TNFR2 (Omar *et al.*, 2016; Ramesh *et al.*, 2003). Logo, a ativação do NF- κ B eleva ainda mais a expressão transcricional recíproca de citocinas, promovendo assim um ciclo vicioso que contribui para a progressão das lesões hepáticas (Habib *et al.*, 2021; Hagar *et al.*, 2019).

Por outro lado, a regulação negativa de NF- κ B hepático observada em nossos grupos treinados, especialmente no grupo CP+HIIT, pressupõe que este é um dos mecanismos pelos quais o treinamento regulou a resposta inflamatória local, conferindo um efeito hepatoprotetor neste grupo. Não encontramos estudos evidenciando o papel modulador do HIIT, ou de outros

protocolos de treinamento, sobre a expressão de NF- κ B no tecido hepático de animais tratados com CP. Todavia, considerando outras modalidades de treinamento em outros modelos experimentais de lesões hepáticas, a redução deste fator de transcrição foi observada no fígado de um modelo de diabetes mellitus tipo 2 em camundongos db/db submetidos ao treinamento moderado em esteira por um período de 12 semanas (Sun *et al.*, 2023). Semelhantemente, em um modelo de doença inflamatória hepática por senescência e tumorigênese, camundongos submetidos a corrida em esteira de intensidade moderada durante três meses apresentaram um perfil inflamatório hepático reduzido devido a uma menor expressão de NF- κ B (Bianchi *et al.*, 2021). Adicionalmente, Yu *et al.* (2022) observaram que camundongos com injúria hepática induzida por flúor e submetidos a um protocolo de treinamento em corrida em esteira de intensidade moderada durante seis meses apresentaram menor resposta inflamatória através da regulação da via IKK β /NF- κ B, e consequente redução da produção de citocinas pró-inflamatórias. Por outro lado, Gao *et al.* (2020) relataram que camundongos submetidos a corrida de alta intensidade apresentaram maior expressão de NF- κ B, promovendo um efeito pró-inflamatório no tecido hepático. Todavia, o protocolo de corrida intensiva e o HIIT apresentam diferenças importantes em sua execução, o que pode levar a diferentes efeitos resultantes. Neste estudo em particular, a corrida intensiva foi executada de modo contínuo, durante 90 minutos, em esteira com inclinação a 5°. Ao contrário do HIIT, o qual geralmente é executado em ciclos alternados de corrida intensa e períodos de recuperação.

No que diz respeito ao sexo, os efeitos benéficos mediados pelo treinamento foram em sua maioria demonstrados em animais machos, havendo uma grande escassez de estudos investigando a modulação da expressão de NF- κ B hepático em fêmeas. Nesse sentido, apenas um estudo foi encontrado, no qual o treinamento moderado de resistência em esteira, por 5 semanas, reduziu o acúmulo de gordura hepática e atenuou a expressão local de NF- κ B e outros biomarcadores inflamatórios em ratas ovariectomizadas portadoras de DHGNA (Pighon *et al.*, 2011). Portanto, é evidente a necessidade de mais estudos como o nosso, investigando o papel modulador do treinamento em fêmeas, sobretudo na presença de níveis fisiológicos dos hormônios ovarianos.

Nossos resultados demonstram que o aumento da expressão de NF- κ B no grupo CP+S foi acompanhado pelo aumento concomitante da expressão gênica local do TLR4 no tecido hepático destes animais, o que reforça a participação deste receptor como um possível mecanismo molecular para a instalação do processo inflamatório em nosso modelo experimental. Estudos apontam que o NF- κ B é um dos fatores ativados através da resposta da sinalização do receptor TLR4 para produzir mediadores inflamatórios e exacerbar as lesões

hepáticas (El-Shitany; Eid, 2017; Chen *et al.*, 2021; Yao *et al.*, 2023). Em concordância com nossos achados, estudos anteriores também demonstraram a participação da via de sinalização TLR4/NF- κ B na exacerbação do processo inflamatório no tecido hepático de ratos tratados com CP (El-Shitany; Eid, 2017; Khedr *et al.*, 2020). Particularmente, El-Shitany e Eid (2017) mostraram que a sinalização do TLR4 ativou fatores de transcrição através dos miRNAs, como o MyD88, levando a produção de diversos mediadores pró-inflamatórios em ratos com hepatotoxicidade induzida por CP. Ademais, a ativação do TLR4 também foi importante para iniciar a resposta inflamatória em outros modelos experimentais de lesão, incluindo na insuficiência hepática aguda induzida por lipopolissacarídeo (LPS)/D-galactosamina (D-GalN) (Shi *et al.*, 2023), na DHGNA (Wang, L. *et al.*, 2020) e no processo inflamatório induzido por LPS (Hu *et al.*, 2020).

Nesta perspectiva, nossos achados evidenciam um importante efeito modulador do exercício físico sobre a expressão do TLR4, uma vez que todos os protocolos de treinamento foram capazes de reduzir a expressão deste receptor e, conseqüentemente, a possível interação inicial entre o TLR4 e o NF- κ B para desencadeamento do processo inflamatório hepático. No entanto, tal efeito foi ainda mais pronunciado nos animais pré-condicionados com o protocolo HIIT quando comparado aos demais grupos treinados. Não foram encontrados estudos demonstrando o impacto do HIIT sobre a via de sinalização TLR4/NF- κ B em modelos experimentais de doenças hepáticas. No entanto, Soltani *et al.* (2020) investigaram o impacto de um protocolo de treinamento durante duas semanas combinando treinamento de resistência e aeróbico, ambos intervalado de alta intensidade, em mulheres jovens obesas ou com sobrepeso, nas quais observou-se redução da expressão gênica de TLR4 e NF- κ B em células mononucleares do sangue periférico, diminuindo a inflamação sistêmica em doenças metabólicas. Por outro lado, Soltani *et al.* (2023) demonstraram que um protocolo de treinamento combinando HIIT aeróbico com HIIT de resistência por um período de 10 semanas foi mais eficaz em diminuir a inflamação sistêmica através da atenuação da via TLR4/MyD88 quando comparado com apenas o HIIT aeróbico em mulheres jovens obesas ou com sobrepeso.

Apesar de serem bastante escassos os estudos investigando o impacto do HIIT sobre a prevenção e manejo das doenças hepáticas, sobretudo quanto a modulação da via TLR4/NF- κ B, algumas evidências apontam para um efeito benéfico do treinamento de intensidade moderada sobre esta via. Assim, Zhu *et al.* (2021) observaram que a corrida em esteira de intensidade moderada por 8 semanas, via produção da miocina irisina, foi capaz de modular a interação MD2-TLR4, reduzindo a cascata de ativação do NF- κ B intracelular em camundongos portadores de DHGNA. Semelhantemente, o exercício intenso à 75% da VO₂max em esteira,

por 12 semanas, foi capaz de atenuar a inflamação através da supressão da via TLR4/NF- κ B em camundongos com DHGNA (Yu *et al.*, 2021). Por outro lado, Barcelos *et al.* (2016) observaram que o exercício físico excêntrico agudo aumentou a expressão de TLR4, MyD88 e NF- κ B no fígado de ratos saudáveis, promovendo um efeito pró-inflamatório após exercício agudo, o qual foi suprimido pelo pré-tratamento com diclofenaco.

Embora não termos encontrado estudos demonstrando a modulação do receptor TLR4 pelo exercício em modelos experimentais de hepatotoxicidade induzidas por drogas, um estudo recente conduzido por nosso grupo de pesquisa reportou que três protocolos de treinamentos aeróbicos de intensidades leve, moderada e o HIIT regularam o processo inflamatório no tecido renal via modulação negativa da via TLR4/NF- κ B em ratas com nefrotoxicidade induzida por CP (Leite *et al.*, 2021). Interessantemente, neste mesmo estudo foi demonstrado que os efeitos do treinamento foram dependentes da variável intensidade, portanto com efeitos mais pronunciados com o HIIT (Leite *et al.*, 2021). Assim, essas evidências convergem em direção aos nossos achados, e sugerem que o HIIT pode ser uma estratégia mais efetiva em infrarregular a via de sinalização TLR4/NF- κ B e, conseqüentemente, modular o processo inflamatório hepático induzido pela CP.

Após avaliarmos a regulação da expressão hepática do TLR4 e NF- κ B pelos nossos protocolos de treinamento, passamos então a investigar os níveis das citocinas a jusante desta via. Como esperado, os nossos dados revelam que a CP promoveu um aumento nas expressões gênica e/ou proteica das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 no grupo CP+S em relação ao grupo controle. Estudos apontam que a produção de TNF- α ocorre tanto pelas células lesadas do parênquima hepático, quanto pelos macrófagos ativados no local da lesão, e parece desempenhar um papel central na ativação da resposta de citocinas e progressão dos danos aos hepatócitos em ratos tratados com CP (El-Gizawy *et al.*, 2020; Rehman *et al.*, 2014). Tal protagonismo deve-se ao fato de que a ligação do TNF- α aos seus receptores TNFR1 e TNFR2 pode estimular a ativação de vários fatores de transcrição, como o NF- κ B, levando a sinalização e produção de outras citocinas pró-inflamatórias que exacerbam a progressão do *status* inflamatório (Blaser *et al.*, 2016; Abdel-Daim *et al.*, 2020).

Além do TNF- α , a participação dessas outras citocinas, as quais incluem IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8, é considerada como fator fundamental na sustentação do processo inflamatório na citotoxicidade induzida pela CP (Lee *et al.*, 2011; El-Shitany; Eid., 2017; Rashid *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2023). Embora não termos encontrado estudos investigando o papel da IL-1 α especificamente na hepatotoxicidade induzida por este quimioterápico, foi demonstrado que esta citocina reforçou a hepatotoxicidade do TNF- α em camundongos sensibilizados com

galactosamina (Nagakawa *et al.*, 1991). A ação intracelular da IL-1 α também foi capaz de ativar NF- κ B e estimular a produção de novas citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, promovendo um ciclo de *feedback* positivo que contribuiu para a progressão do processo inflamatório, sendo considerada ainda mais importante do que a IL-1 β , no tecido renal de camundongos com nefrotoxicidade induzida por CP (Lee *et al.*, 2011). Adicionalmente, em um modelo de doença hepática induzida por dietilnitrosamina, notou-se que a liberação de IL-1 α pelas células hepáticas lesadas levou à ativação do NF- κ B nas células de Kupffer, com consequente produção de IL-6 e IL-8, exacerbando assim o processo inflamatório tecidual (Maeda *et al.*, 2005; Sakurai *et al.*, 2008). Ademais, outros estudos também demonstraram que a IL-1 α esteve criticamente envolvida na imunopatogênese da lesão hepática induzida por acetaminofeno (Ishibe *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2018) e por tetracloreto de carbono (Lin *et al.*, 2015) em animais experimentais. Especificamente, Zhang *et al.* (2018) demonstraram que as células de Kupffer funcionam como uma importante fonte de IL-1 α ativada no fígado, cuja ativação ocorre por intermédio dos DAMPs, produzidos pelos hepatócitos danificados, que se ligam aos receptores TLR4 e ativam a via TLR4/MyD88 nas células de Kupffer. Reciprocamente, os neutrófilos e monócitos também foram alvos da IL-1 α para amplificar os sinais inflamatórios hepáticos nesse modelo experimental (Zhang *et al.*, 2018). Portanto, considerando o conjunto de evidências que reforçam a participação desta citocina no processo inflamatório hepático nesses diversos modelos experimentais, nos é possível aventar que, juntamente com o TNF- α , a IL-1 α exerceu um papel de destaque na sustentação e amplificação do processo inflamatório, estimulando a produção das demais citocinas, em nosso modelo experimental de hepatotoxicidade induzida por CP.

Nesta perspectiva, nossos dados demonstram que o HIIT foi o único protocolo de treinamento eficaz em diminuir os níveis de todas as citocinas pró-inflamatórias aqui investigadas em relação aos demais protocolos tradicionais de treinamentos. Os níveis de IL-8 foram também reduzidos pelo treinamento moderado em nosso grupo CP+MIT. Embora não tenhamos encontrado estudos investigando os efeitos do exercício físico, sobretudo do HIIT, sobre tais mediadores inflamatórios na hepatotoxicidade induzida por CP, recentes estudos conduzidos por nosso grupo de pesquisa demonstraram a superioridade do HIIT em relação ao MIT e LIT em reduzir os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 (Leite *et al.*, 2021) e IL-8 (Oliveira *et al.*, 2023) no tecido renal de ratas tratadas com CP. Desse modo, o nosso estudo é pioneiro em evidenciar os efeitos de três diferentes protocolos de treinamento sobre os níveis dessas importantes citocinas, especialmente da IL-1 α , visto que a mesma é criticamente envolvida na imunopatogênese de lesões hepáticas, sustentando e amplificando as lesões inflamatórias

teciduais. Assim, uma vez que não há nenhum inibidor específico para a IL-1 α até o presente momento, nossa demonstração de que o HIIT pode modular os níveis hepáticos desta citocina, e conseqüentemente regular o processo inflamatório hepático, possui grande importância científica.

Apesar da escassez de estudos demonstrando o papel modulador do HIIT sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias em modelos de hepatotoxicidade farmacotóxica, ao considerar outros modelos experimentais, nota-se que a literatura apresenta algumas evidências desse papel do HIIT, principalmente em modelos crônicos de DHGNA conduzidos em animais machos. Nesse sentido, em concordância com nossos achados, um estudo demonstrou que o HIIT realizado em esteira por 16 semanas foi mais eficaz que o exercício contínuo de intensidade moderada em atenuar a progressão da DHGNA, promovendo uma diminuição substancial do número de macrófagos infiltrados e da expressão intracelular de IFN- γ , TNF- α e IL-6 no tecido hepático de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (Fredrickson *et al.*, 2021). O HIIT foi capaz de reduzir a expressão gênica de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e MCP-1 no fígado de modelos experimentais de diabetes do tipo 2 (Wang *et al.*, 2022) e de DHGNA induzida por dieta (de Castro-de-Paiva *et al.*, 2022), reduzindo significativamente o processo inflamatório hepático nesses animais. Semelhantemente, o HIIT, realizado em esteira por um período de 5 semanas, atenuou a expressão gênica de MCP-1, TNF- α e TGF- β em camundongos com DHGNA induzida por tetraciclina (Hosseini *et al.*, 2022). Ademais, embora não terem investigado os níveis de citocinas pró-inflamatórias hepáticas, Wang *et al.* (2017) reportaram que os efeitos da prática do HIIT em esteira por 8 semanas foram superiores àqueles do treino moderado em reduzir a esteatose hepática e disfunções metabólicas através da modulação de genes relacionados à lipogênese e β -oxidação, os quais desempenham papel importante na instalação do processo inflamatório local, em camundongos com obesidade induzida por dieta (Wang *et al.*, 2017). Todas essas evidências sustentam a nossa hipótese de que o HIIT pode fornecer efeitos hepatoprotetores superiores àqueles fornecidos pelos treinamentos tradicionais em nosso modelo de hepatotoxicidade induzido por CP.

Por outro lado, ao contrário de nosso estudo, recentemente Sheikh *et al.* (2023) demonstraram que, embora o HIIT, executado em esteira por 8 semanas, tenha sido eficaz em reduzir os níveis hepáticos das citocinas TNF- α , IL-6 e TGF- β , o protocolo de treinamento intervalado de intensidade moderada alcançou efeitos ainda mais pronunciados em um modelo experimental de diabetes do tipo 2. De fato, outros estudos também apontaram uma modulação benéfica dos níveis de citocinas pró-inflamatórias hepáticas mediadas pelo treinamento moderado (Altintas *et al.*, 2022; Osuru *et al.*, 2023). Diniz *et al.* (2021), por exemplo,

observaram que 8 semanas de treino moderado reduziu a expressão de TNF- α , IL-6 e MCP-1 no tecido hepático de ratos obesos. Desse modo, essas evidências apontam para importantes efeitos hepatoprotetores do treinamento moderado, os quais podem ser dependentes do modelo experimental de lesão hepática e das características do treinamento.

Nosso estudo também avaliou os níveis hepáticos de IL-10, a qual é uma importante citocina anti-inflamatória produzida por células do sistema imune, principalmente por macrófagos de fenótipo M2, cuja função é inibir a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e a ativação de células imunes (Tadagavadi *et al.*, 2010). Embora estudos demonstrem que a CP é responsável por promover uma redução dos níveis de IL-10, a qual está associada a um aumento da expressão de TNF- α e exacerbação da lesão hepática em ratos tratados com CP (Koppelman *et al.*, 1997; Omar *et al.*, 2016), nossos dados revelaram que o grupo CP+S apresentou um aumento da expressão desta citocina quando comparado ao grupo controle. Em concordância com os nossos achados, estudos experimentais também demonstraram que a CP aumentou a sinalização renal de IL-10 em ratos com nefrotoxicidade (Tadagavadi *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2020; Miyagi *et al.*, 2018). A expressão hepática de IL-10 também foi elevada concomitantemente às expressões de citocinas pró-inflamatórias em camundongos diabéticos (Wang *et al.*, 2022). Assim, como a presença da IL-10 é necessária para controlar a resposta inflamatória, é cabível supor que o aumento desta citocina observado no grupo CP+S pode estar relacionado, pelo menos em parte, ao desenvolvimento de uma resposta compensatória frente ao insulto promovido pela CP.

Por outro lado, nossos dados revelam que o HIIT foi o único protocolo capaz de potencializar ainda mais as expressões gênica e proteica de IL-10 e reduzir a razão TNF- α /IL-10 em comparação aos demais protocolos de treinamento. Esses achados sugerem o predomínio de um perfil anti-inflamatório hepático no grupo CP+HIIT em relação a todos os demais grupos tratados com CP. Mais uma vez, não encontramos estudos que demonstrem o papel modulador do pré-condicionamento com HIIT sobre os níveis hepáticos de IL-10 na hepatotoxicidade induzida por CP. No entanto, considerando um outro modelo experimental, tanto o HIIT quanto o treino intervalado de intensidade moderada, executados por um período de 8 semanas, foram igualmente capazes de elevar os níveis hepáticos de IL-10 em um modelo experimental de diabetes do tipo 2 (Sheikh *et al.*, 2023). Silva *et al.* (2020) também reportaram que 8 semanas de treinamento aeróbico de intensidade moderada promoveram um aumento na expressão gênica de IL-10 a qual, por sua vez, foi capaz de inibir a produção exacerbada de TNF- α no tecido hepático de ratos obesos. Ademais, um estudo clínico demonstrou que 6 semanas de treinamento de intensidade moderada foi capaz de aumentar os níveis séricos de IL-10,

reduzindo, dessa forma, o *status* inflamatório em mulheres com síndrome metabólica (Osali, 2020). Por outro lado, ao contrário dos nossos achados, Wang *et al.* (2022) observaram que o protocolo de treinamento com HIIT, por 8 semanas, reduziu concomitantemente as expressões gênicas de IL-10 e de citocinas pró-inflamatórias no tecido hepático de camundongos com diabetes mellitus tipo 2. Segundo esses autores, tal efeito é esperado, uma vez que o aumento da IL-10 foi uma resposta compensatória ao insulto hiperglicêmico, o qual foi revertido e acompanhado por uma melhora da resposta inflamatória hepática mediada pelo treinamento. Assim, apoiados nessas evidências, acreditamos que em nosso estudo a modulação da inflamação no tecido hepático do grupo CP+HIIT pode estar associada, pelo menos em parte, ao aumento da expressão local de IL-10.

Uma vez constatada a modulação benéfica dos níveis de citocinas inflamatórias no grupo CP+HIIT, passamos então a investigar o impacto de nossos protocolos de treinamento sobre a infiltração de células imunes no tecido hepático. Assim, nossos resultados revelam que o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias induzido pela CP foram também acompanhados por aumentos da imunomarcagem de células ED-1 positivas (marcador de macrófagos/células de Kupffer) e nas expressões dos marcadores de macrófagos M1 e M2 no tecido hepático do grupo CP+S. Adicionalmente, nossos dados também sugerem uma tendência à polarização fenotípica pró-inflamatória dos macrófagos (M1), em relação ao fenótipo anti-inflamatório (M2) nesses animais, porém sem significância estatística. A fim de prever a caracterização fenotípicas dos macrófagos, utilizamos os marcadores iNOS (M1) e arginase 1 (M2) em nosso estudo. A iNOS é uma enzima que produz óxido nítrico cuja expressão é ausente nas células em repouso, mas é induzida em resposta a estímulos imunológicos, como citocinas pró-inflamatórias (Iwakiri, 2015). A literatura retrata que as vias mais estudadas no fígado é sua ativação via TLR (Zhou *et al.*, 2014) e NF- κ B (Iwakiri, 2015), onde o NF- κ B se liga ao promotor iNOS e induzir sua expressão nos hepatócitos, células de Kupffer e células endoteliais. Embora a expressão da iNOS seja induzida em outras células hepáticas, ela é frequentemente utilizada como um marcador de macrófagos M1 devido a sua elevada expressão pelas células de Kupffer em relação às demais células do fígado (Jablonski *et al.*, 2015; Iwakiri, 2015). Assim, é bem reconhecido que os macrófagos M1 produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , TNF- α , IL-1 β e IL-6, contribuindo largamente para os danos hepáticos (Dou *et al.*, 2020).

Já a arginase 1, uma enzima que converte a arginina em ornitina e ureia, é expressa principalmente no fígado pelos hepatócitos e células de Kupffer. Tal enzima é amplamente utilizada como um marcador para macrófagos M2, uma vez que é produzida em altos níveis

por essas células (Jablonski *et al.*, 2015). Ademais, estudos reportam que macrófagos M2 são uma importante fonte de IL-10, exibem alta capacidade fagocítica e são responsáveis pela imunorregulação e remodelação tecidual (Sica *et al.*, 2012, Krenkel; Tacke, 2017; Dou *et al.*, 2020). Assim, a tendência ao aumento da razão dos marcadores de macrófagos M1/M2 em nosso grupo CP+S acompanhado pelo aumento das citocinas IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-1 α e IL-8 corrobora com a hipótese de haver uma possível polarização M1 dos macrófagos no fígado desses animais. Ademais, o aumento da expressão do marcador de macrófagos M2 no grupo CP+S em relação ao controle pode refletir uma tentativa de imunorregulação frente ao insulto, além de explicar os elevados níveis de IL-10 nesses animais. Embora a caracterização fenotípica dos macrófagos ter sido reportada em outros modelos experimentais de lesões hepáticas agudas (Rahman *et al.* 2018; Wijesundera *et al.*, 2014), até onde sabemos, o nosso estudo é o primeiro a avaliar tal fenômeno em um modelo experimental de hepatotoxicidade induzida por CP em ratas, como um fator contribuinte para o desenvolvimento das lesões.

Interessantemente, é pertinente ressaltar que Marcos *et al.* (2016) demonstraram um dimorfismo sexual na estrutura hepática entre ratos machos e fêmeas, reportando que fêmeas possuíam um maior número de hepatócitos e células de Kupffer em comparação com os machos. Esses mesmos autores também reportaram que, em homeostase fisiológica, fêmeas apresentavam menor perfil pró-inflamatório devido a uma maior quantidade de células de Kupffer com fenótipo anti-inflamatório. Assim, sabendo que os fatores micro-ambientais moldam as propriedades e o estado de ativação dos macrófagos, regulando a mudança dinâmica fenotípica e funcional entre os subtipos M1 e M2 (Zhou *et al.*, 2014), é razoável supor que o insulto hepático induzido pela CP em um micro-ambiente naturalmente mais ocupado por células de Kupffer, como é o caso de fêmeas, pode repercutir de forma marcante em uma diferenciação funcional dessas células em direção ao seu perfil pró-inflamatório, desencadeando assim maiores insultos hepáticos dependentes do sexo. Contudo, ainda são necessários estudos comparativos e controlados para testar e confirmar tal hipótese.

Por outro lado, nossos dados demonstram que o protocolo de HIIT foi o único eficaz em prevenir o aumento do número de células ED1-positivas, reduzir a expressão gênica do marcador de macrófagos M1 e aumentar a expressão de macrófagos M2 no tecido hepático do grupo CP+HIIT em relação ao CP+S. Quando avaliamos a razão entre os marcadores de macrófagos M1/M2, observamos que todos os protocolos de treinamento foram capazes de reduzir significativamente esse parâmetro, embora tal redução mediada pelo HIIT tenha sido mais proeminente. Esse resultado sugere que nossos protocolos de treinamento, principalmente o HIIT, podem ter induzido uma polarização fenotípica M2 dos macrófagos, via redução de

citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF- α e IL-8, e aumento de IL-10, modulando assim o micro-ambiente hepático em direção a uma resposta anti-inflamatória, visando a restauração tecidual frente ao insulto. Não encontramos estudos demonstrando tal fenômeno no modelo de hepatotoxicidade induzida por CP. Contudo, considerando outros modelos experimentais, Jeong *et al.* (2015) mostraram que o treinamento físico de intensidade moderada, durante 12 semanas, foi importante para reduzir a infiltração de células imunes no tecido hepático e favorecer uma regulação positiva de macrófagos do tipo M2 em animais submetidos a uma dieta hiperlipídica. Ademais, Yazdani *et al.* (2021) evidenciaram que o treinamento físico em esteira de intensidade moderada durante 4 semanas foi capaz de atenuar a resposta inflamatória aguda no tecido hepático, diminuindo a quimiotaxia de células imunes e promovendo a mudança fenotípica para macrófagos M2 em camundongos com lesão hepática induzida pela isquemia-reperfusão.

Mais uma vez, não encontramos estudos demonstrando os efeitos do HIIT sobre a expressão dos macrófagos em nosso modelo de hepatotoxicidade induzida por CP. No entanto, Leite *et al.* (2021) mostram que o HIIT realizado durante 8 semanas foi capaz de prevenir o aumento de células ED-1 positivas na nefrotoxicidade induzida por esse quimioterápico em ratas. Já em relação ao tecido hepático, Fredrickson *et al.* (2021) demonstraram que 16 semanas de HIIT melhoraram a progressão da DHGNA através da redução de células imunes, incluindo as células de Kupffer e os macrófagos infiltrantes com caráter inflamatório. Interessantemente, Wang *et al.* (2022) demonstraram que animais com diabetes mellitus tipo 2 apresentaram maior polarização M2 de macrófagos no tecido hepático quando submetidos a um protocolo de HIIT por 8 semanas. Semelhantemente, Sheikh *et al.*, (2023) também observaram que o HIIT promoveu uma redução da imunomarcagem de macrófagos tipo M1 (CD86) e aumento do tipo M2 (CD206) no tecido hepático de ratos diabéticos, muito embora efeitos mais pronunciados tenham sido observados pelo protocolo de treinamento intervalado de intensidade moderada neste mesmo estudo. Ao contrário, Zhou *et al.* (2022) demonstraram que o exercício exaustivo em natação durante 2 semanas promoveu um perfil pró-inflamatório hepático, elevando a expressão de macrófagos M1 e reduzindo a expressão de macrófagos M2 em animais saudáveis. Além disso, o exercício exaustivo também elevou os níveis teciduais de TNF- α , IL-6 e IL-1 β exacerbando o processo inflamatório nesses animais. Essas evidências sugerem que variáveis do treinamento, como modalidade, intensidade e volume, além do próprio modelo experimental, podem influenciar largamente os impactos fisiológicos do exercício e, conseqüentemente, os efeitos pretendidos.

Finalmente, é importante ressaltar que o fato de reportarmos aqui os efeitos de três diferentes protocolos de treinamento aeróbicos em fêmeas agrega uma relevância científica adicional ao nosso estudo. Nesse sentido, embora o papel hepatoprotetor dos hormônios ovarianos sejam largamente reconhecidos na literatura (Yang *et al.*, 2012; Galmés-Pascual *et al.*, 2020; Ali Mondal *et al.*, 2023), alguns estudos sugerem que a hepatotoxicidade farmacotóxica pode ser mais intensa em fêmeas do que em machos (Toyoda *et al.*, 2012; Hazelhoff *et al.*, 2018). Ademais, estudos anteriores comparando estratégias citoprotetoras contra a nefrotoxicidade induzida por CP entre machos e fêmeas reportaram efeitos exitosos em machos, mas falharam em alcançar tal renoproteção em fêmeas, reforçando a influência do sexo nesse processo. Logo, estudos como o nosso, visando a identificação de estratégias hepatoprotetoras também em fêmeas, podem nortear futuros estudos rumo à identificação de outras estratégias terapêuticas, bem como inspirar a exploração de mecanismos envolvidos na modulação dos hormônios sexuais sobre a citotoxicidade induzida por agentes farmacotóxicos, a fim de sanar as lacunas nesta área do conhecimento.

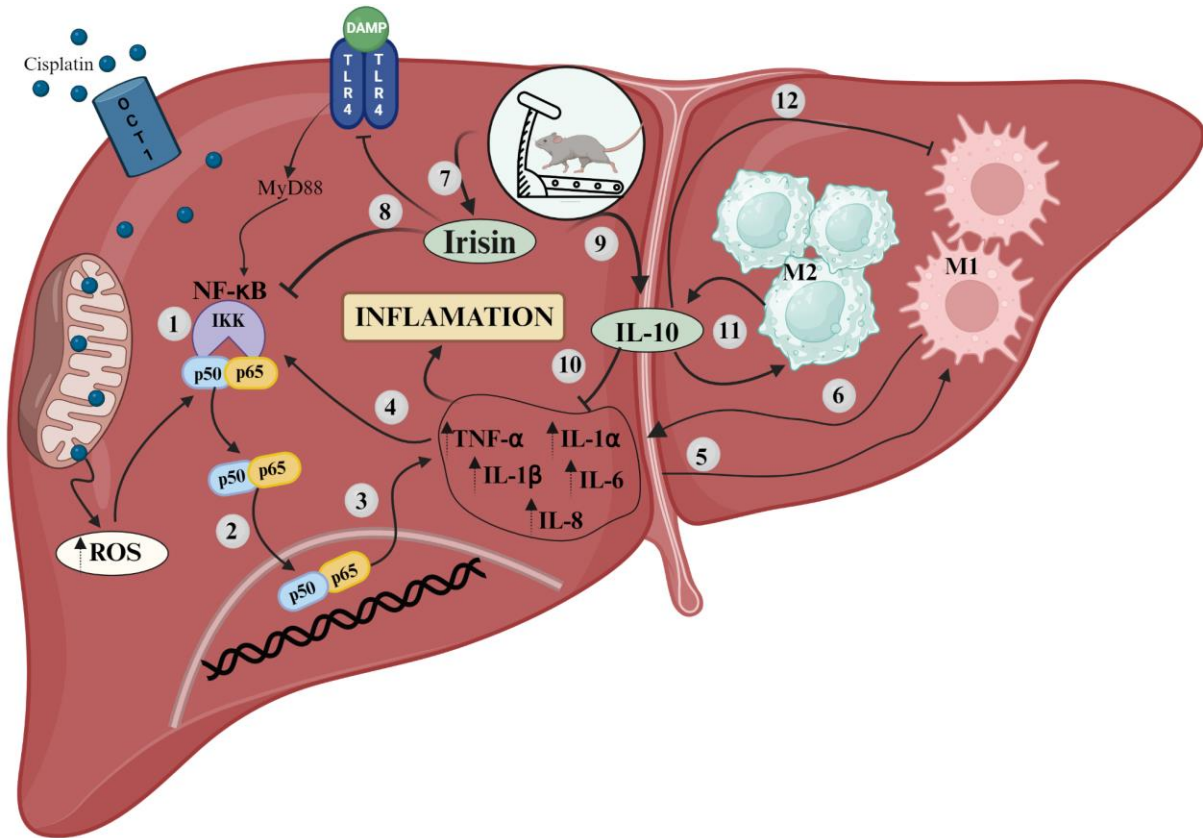


Figura 8. Ações anti-inflamatórias do exercício físico na hepatotoxicidade induzida pela CP. 1) Após ser capturada pelo transportador OCT1, a CP induz a produção de ROS, que ativa o NF-κB. CP também pode ativar NF-κB via DAMPs/TLR4/MyD88. 2) Após a ativação, o heterodímero p50/p65 transloca-se para o núcleo e 3) desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias. Essas citocinas, por sua vez, 4) retroalimentam positivamente a ativação do NF-κB e 5) estimulam a diferenciação dos macrófagos M1, 6) produzindo assim mais citocinas. 7) O exercício físico regula a inflamação hepática, através da secreção de irisina, (8) inibindo a ativação de TLR4/NF-κB, reduzindo assim a produção de citocinas pró-inflamatórias, e 9) aumentando a produção de IL-10. 10) A IL-10, por sua vez, regula negativamente a produção de citocinas pró-inflamatórias, 11) estimula a diferenciação de macrófagos M2, os quais secretam IL-10 e 12) inibe a diferenciação de macrófagos M1. [→ Estimulação ⇐ Inibição. DAMP, padrões moleculares associados a danos; TLR4, Receptor Toll-Like 4; MyD88, gene de diferenciação mieloide 88; NF-κB, fator nuclear kappa B; OCT1, transportadores de cátions orgânicos 1; ROS, espécies reativas de oxigênio; TNF-α, fator de necrose tumoral alfa; IL, interleucina].

8. CONCLUSÃO

Como conclusão, nosso estudo comparou os efeitos hepatoprotetores de três diferentes protocolos de pré-condicionamento físico aeróbico por 8 semanas sobre importantes marcadores do processo inflamatório na hepatotoxicidade induzida por CP em ratas wistar. Considerados em conjunto, nossos dados apontam para o HIIT como o protocolo de treinamento mais efetivo em promover hepatoproteção, modulando benéficamente o *status* inflamatório tecidual nesse modelo experimental. Tal modulação a nível pré e pós-transcricional sobre o perfil das citocinas aqui pesquisadas pode estar relacionada a três possíveis mecanismos principais: 1) menor ativação da via de sinalização TLR4/NF- κ B; 2) redução da razão TNF- α /IL-10 e 3) redução da infiltração de células imunes, associada à maior polarização fenotípica anti-inflamatória de macrófagos (M2). Adicionalmente, é importante ressaltar que o fato de reportarmos tais efeitos em fêmeas agrega uma relevância científica adicional ao nosso estudo, visto que há um possível dimorfismo sexual com relação a hepatotoxicidade induzida por CP, aliado ao fato de que alguns estudos falharam em demonstrar efeitos citoprotetores de outras estratégias terapêuticas em fêmeas. Logo, o nosso estudo agrega conhecimento e relevância para o avanço nesta área, norteando futuras pesquisas rumo à padronização de mais protocolos de treinamento, com manipulação de suas diversas variáveis (modalidades, intensidades, duração, volumes e frequência), a fim conferir maior hepatoproteção também no sexo feminino.

9. REFERÊNCIAS

ABASSI, M., M. *et al.* Effects of *Cornus mas* Fruit Hydro-Methanolic Extract on Liver Antioxidants and Histopathologic Changes Induced by Cisplatin in Rats. **Ind J Clin Biochem**, v. 35, n. 2, p. 218–224, 2020.

ABDEL-DAIM, M., M. *et al.* Impact of garlic (*Allium sativum*) oil on cisplatin-induced hepatorenal biochemical and histopathological alterations in rats. **Science of the Total Environment**, v. 710, 2020.

ABDEL-GAYOUM AA, AHMIDA MHS. Changes in the serum, liver, and renal cortical lipids and electrolytes in rabbits with cisplatin-induced nephrotoxicity. **Turk J Med Sci**, v.47: 1019-1027; 2017.

AFSAR, T. *et al.* Modulatory influence of *Acacia hydaspica* R. Parker ethyl acetate extract against cisplatin induced hepatic injury and dyslipidemia in rats. In: **BMC Complement Altern Med**. v.17, n.1:307, 2017

AKCAY, A. *et al.* Mediators of Inflammation in Acute Kidney Injury. **Mediators of Inflammation**. vol. 2009, Artigo ID 137072, 12 páginas, 2009.

ALHOSHANI, A. R. *et al.* Neuro-protective effect of rutin against Cisplatin-induced neurotoxic rat model. **BMC Nephrol**. v. 17, n. 472, 2017;

AL-LAMKI, R. S.; MAYADAS, T. N. TNF receptors: signaling pathways and contribution to renal dysfunction. *Kidney international*, v. 87, n. 2, p. 281–296, 2015.

AL-MAJED A.A. Carnitine deficiency provokes cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**. Mar;100(3):145-50; 2007. doi: 10.1111/j.1742-7843.2006.00024.x. PMID: 17309516.

AL-MALKI A.L.; SAYED A.A. Thymoquinone attenuates cisplatin-induced hepatotoxicity via nuclear factor kappa- β . **BMC Complement Altern Med**. 14:282, 2014. doi:10.1186/1472-6882-14-282

ALI MONDAL S. *et al.* 17 α -estradiol, a lifespan-extending compound, attenuates liver fibrosis by modulating collagen turnover rates in male mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 1;324(2):E120-E134, 2023 doi: 10.1152/ajpendo.00256.2022.

ALMAZROO OA, MIAH MK, VENKATARAMANAN R. Drug Metabolism in the Liver. **Clin Liver Dis**. 21(1):1-20, 2017 doi: 10.1016/j.cld.2016.08.001. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27842765.

ALMEIDA, A. A. *et al.* Nephroprotective effect of exercise training in cisplatin-induced renal damage in mice: influence of training protocol. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 55, 2022.

ALTINTAS F. *et al.* Swimming exercise restores damaging effects of fructose-enriched diet on the liver in rats. **Tissue Cell**. 78:101894, 2022 doi:10.1016/j.tice.2022.101894

AMACHER DE. Female gender as a susceptibility factor for drug-induced liver injury. **Hum Exp Toxicol**. 33(9), 928-39, 2014. doi: 10.1177/0960327113512860.

AMARAL LSB. *et al.* Renal changes in the early stages of diet-induced obesity in ovariectomized rats. **Physiol Res**. 63(6), 723–32, 2014.

BACCHI, E. *et al.* Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized trial). **Hepatology**, 58, 1287–1295, 2013.

BANO, N.; NAJAM, R. Histopathological and biochemical assessment of liver damage in albino Wistar rats treated with cytotoxic platinum compounds in combination with 5-fluorouracil. **Arch Med Sci**, v. 14, n. 4, p. 1092-1103, 2019.

BARABAS, K. *et al.* Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. **Veterinary and comparative oncology**, v. 6, n. 1, p. 1-18, 2008.

BARCELOS, R. *et al.* Diclofenac pretreatment effects on the toll-like receptor 4/nuclear factor kappa B-mediated inflammatory response to eccentric exercise in rat liver. **Life sciences**, v. 148, p. 247-253, 2016.

BARNES, P. J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N Engl J Med**.v.10, n. 336, p.1066-71, 1997.

BARROSO, W., K., S. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BATACAN, R. B. *et al.* Effects of high-intensity interval training on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of intervention studies. **British journal of sports medicine**, v. 51, n. 6, p. 494–503, 2017.

BAY ML. *et al.* Voluntary Wheel Running Reduces the Acute Inflammatory Response to Liver Carcinogen in a Sex-specific Manner. **Cancer Prev Res (Phila)**. 10(12):719-728, 2017 doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-17-0075.

BIANCHI, A. *et al.* Moderate exercise inhibits age-related inflammation, liver steatosis, senescence, and tumorigenesis. **The Journal of Immunology**, v. 206, n. 4, p. 904-916, 2021.

BLAIR, S. N. Physical inactivity: the biggest public health problem of the 21st century, **Br. J. Sports Med**. v. 43 p.1-2. 2009.

BLASER H. *et al.* TNF and ROS Crosstalk in Inflammation. **Trends Cell Biol**. Apr;26(4):249-261, 2016 doi: 10.1016/j.tcb.2015.12.002.

BONAVIA A, SINGBARTL K. A review of the role of immune cells in acute kidney injury. **Pediatr Nephrol.** 33(10):1629-1639, 2018. doi: 10.1007/s00467-017-3774-5.

BOSTROM P. *et al.* A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. **Nature.** Jan 11;481(7382):463–8, 2012

BOUTCHER SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. **Journal of obesity.** 2011. doi:10.1155/2011/868305

BURRA P. *et al.* Special Interest Group Gender in Hepatology of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF). Clinical impact of sexual dimorphism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). **Liver Int.** 41(8):1713-1733, 2021. doi: 10.1111/liv.14943.

BUZZETTI E. *et al.* Gender differences in liver disease and the drug-dose gender gap. **Pharmacol Res.**120:97-108, 2017. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.014.

CAVALLI G. *et al.* Interleukin 1 α : a comprehensive review on the role of IL-1 α in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. **Autoimmun Rev.** 20(3):102763, 2021. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102763.

CATTADORI G. *et al.* Exercise and heart failure: an update. **ESC Heart Fail.** 5(2):222-232, 2018. doi: 10.1002/ehf2.12225.

CHEN, W.-Y. *et al.* Cisplatin nephrotoxicity might have a sex difference. An analysis based on women's sex hormone changes. **Journal of cancer,** v. 8, n. 19, p. 3939–3944, 2017.

CHEN, S. *et al.* Deletion of TLR4 attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis. **Acta Pharmacologica Sinica,** v. 42, n. 10, p. 1610-1619, 2021.

CHOI JH. *et al.* Protective effects of Mg-CUD against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. **Eur J Pharmacol.** 657(1–3): 138–143, 2012.

CHUN, Y. S.; LAURENT, A.; MARU, D.; VAUTHEY, J. N. Management of chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal liver metastases. **Lancet Oncol.** 10, 278–286, 2009.

COFFEY VG, HAWLEY JA. The molecular bases of training adaptation. **Sports Med.** 37:737–763,2007. doi: 10.2165/00007256-200737090-00001.

COHEN, S. M.; LIPPARD, S. J. Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. **Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.** 67, 93–130, 2001.

COUNCIL, N. R. National Institutes of Health guide for the care and use of laboratory animals. 2011.

COUPER, K. N.; BLOUNT, D. G.; RILEY, E. M. IL-10: the master regulator of immunity to infection. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 9, p. 5771-5777, 2008.

CUI, J. *et al.* Effects of exercise on learning and memory, oxidative stress and nNOS expression in marginal division of striatum of ovariectomized rats. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 58, n. 3, p. 356-365, 2017.

DASARI, S. TCHOUNWOU, P.B. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**. 2014

DE CASTRO-DE-PAIVA, P. *et al.* (). Intermittent fasting, high-intensity interval training, or a combination of both have beneficial effects in obese mice with nonalcoholic fatty liver disease. **The Journal of nutritional biochemistry**. 104, 2022. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2022.108997

DE JONGH, F. E. *et al.* Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. **Br J Cancer**, v. 88, p. 1199-1206, 2003.

DINIZ TA. *et al.* Aerobic training improves NAFLD markers and insulin resistance through AMPK-PPAR- α signaling in obese mice. **Life Sci**. 1;266:118868, 2021. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118868.

DKHIL, M.A. *et al.* The potential role of Azadirachta indica treatment on cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in female rats. **Oxid Med Cell Longev**. 2013:741817, 2013. doi: 10.1155/2013/741817.

DOU L, SHI X, HE X, GAO Y. Macrophage Phenotype and Function in Liver Disorder. **Front Immunol**. 10:3112, 2020. doi:10.3389/fimmu.2019.03112

EASTMAN, A. Reevaluation of interaction of cis-dichloro (ethylenediamine) platinum(II) with DNA. **Biochemistry** 25, 3912–3915, 1986.

EGAN B, ZIERATH JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. **Cell Metab**. 17:162–184, 2013. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.012.

EKINCI, F. N. A. *et al.* The protective effects of p-coumaric acid on acute liver and kidney damages induced by cisplatin. **Biomedicines**, v. 5, n. 2, p. 18, 2017.

EL-GIZAWY M.M. *et al.* Curcumin nanoparticles ameliorate hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. 393(10):1941-1953, 2020. doi:10.1007/s00210-020-01888-0

EL-SHITANY N.A.; EID B. Proanthocyanidin protects against cisplatin-induced oxidative liver damage through inhibition of inflammation and NF- κ B/TLR-4 pathway. **Environ Toxicol**. 32(7):1952-1963, 2017. doi: 10.1002/tox.22418.

ESHRAGHI-JAZI, F., *et al.* The protective role of endogenous nitric oxide donor (L-arginine) in cisplatin-induced nephrotoxicity: Gender related differences in rat model. **J Res Med Sci.** v. 16, n.11, p.1389-96, 2001.

ESHRAGHI-JAZI, F.; NEMATBAKHS, M. Sex difference in cisplatin-induced nephrotoxicity: Laboratory and clinical findings. **Journal of toxicology**, v. 2022, p. 3507721, 2022.

FEALY, C. E. *et al.* Short-term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 1, p. 1-6, 2012

FIORENTINO, D. F.; BOND, M. W.; MOSMANN, T. R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **Journal of Experimental Medicine**, v. 170, n. 6, p. 2081-2095, 1989.

FORMIGARI G.P. *et al.* Renal protection induced by physical exercise may be mediated by the irisin/AMPK axis in diabetic nephropathy. **Sci Rep.** 31;12(1):9062, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-13054-y.

FRANCESCATO, H. D. C., *et al.* Previous Exercise Effects in Cisplatin-Induced Renal Lesions in Rats. **Kidney Blood Press Res.** v. 43, p. 582-593, 2018.

FREDRICKSON G. *et al.* Exercise of high intensity ameliorates hepatic inflammation and the progression of NASH. **Mol Metab.** 53:101270, 2021. doi:10.1016/j.molmet.2021.101270

FRIEDENREICH, C. M.; RYDER-BURBIDGE, C.; MCNEIL, J. Physical activity, obesity and sedentary behavior in cancer etiology: epidemiologic evidence and biologic mechanisms. **Molecular oncology**, v. 15, n. 3, p. 790–800, 2021.

FULCO, B.C.W. *et al.* Pattern differences between newborn and adult rats in cisplatin-induced hepatorenal toxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 294, p. 65-73, 2018.

FULLER KNZ. *et al.* Estradiol Treatment or Modest Exercise Improves Hepatic Health and Mitochondrial Outcomes in Female Mice Following Ovariectomy. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 320:E1020–e1031, 2021. doi: 10.1152/ajpendo.00013.2021

GAESSER GA.; ANGADI SS. High-intensity interval training for health and fitness: can less be more? **J Appl Physiol** (1985). 111(6):1540-1, 2011. doi: 10.1152/jappphysiol.01237.2011.

GALMÉS-PASCUAL B.M. *et al.* 17β-Estradiol Ameliorates Lipotoxicity-Induced Hepatic Mitochondrial Oxidative Stress and Insulin Resistance. **Free Radic Biol Med** 150:148–60, 2020. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.016

GAO C. *et al.* Intensive Running Enhances NF-κB Activity in the Mice Liver and the Intervention Effects of Quercetin. **Nutrients.** 11;12(9):2770, 2020. doi: 10.3390/nu12092770.

GHOSH S; KARIN M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. **Cell**. 109 Suppl:S81-96, 2002. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00703-1.

GHOSH S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorg Chem**. 88:102925, 2019. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925.

GIBALA MJ. *et al.*. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. **J Physiol**. 590:1077–1084, 2012. doi: 10.1113/jphysiol.2011.224725.

GLASS O. *et al.* Serum Interleukin-8, Osteopontin, and Monocyte Chemoattractant Protein 1 Are Associated With Hepatic Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Hepatol Commun**. 2(11):1344-1355, 2018. doi: 10.1002/hep4.1237.

GOLBAR H. M. *et al.* Immunohistochemical analyses of the kinetics and distribution of macrophages, hepatic stellate cells and bile duct epithelia in the developing rat liver. **Exp Toxicol Pathol** 64, 1–8, 2012.

GOMEZ-CABRERA, M.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radical Biology & Medicine**, 44, 126–131, 2008.

GRIMBERT, S. *et al.* Effects of female sex hormones on mitochondria: possible role in acute fatty liver of pregnancy. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 268, n. 1, p. G107-G115, 1995.

GUARINO, M. *et al.* Exercise attenuates the transition from fatty liver to steatohepatitis and reduces tumor formation in mice. **Cancers** 12(6), 2020.

GUO, J.; FRIEDMAN, S. L. Toll-like receptor 4 signaling in liver injury and hepatic fibrogenesis. **Fibrogenesis & tissue repair**, 3, 1-19, 2010.

HABIB SA. *et al.* The protective effect of protocatechuic acid on hepatotoxicity induced by cisplatin in mice. **Life Sci**. 277:119485, 2021. doi:10.1016/j.lfs.2021.119485

HAGAR H. *et al.* Inhibition of NF-κB and the oxidative stress -dependent caspase-3 apoptotic pathway by betaine supplementation attenuates hepatic injury mediated by cisplatin in rats. **Pharmacol Rep**. 71(6):1025-1033, 2019. doi: 10.1016/j.pharep.2019.06.003.

HAJIGHASEM, A.; FARZANEGI, P.; MAZAHERI, Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease. **Archives of Physiology and Biochemistry, in Press**, 2018. doi:10.1080/13813455.13812018.11441872.

HAN D, *et al.* Signal transduction pathways involved in drug-induced liver injury. **Handb Exp Pharmacol**. (196):267-310, 2010. doi: 10.1007/978-3-642-00663-0_10.

HANIGAN, M.H.; DEVARAJAN,P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. **Cancer Ther.**; Athens, v.1, p.47-61, 2003.

HASSAN, H.M. *et al.* Suppression of Cisplatin-Induced Hepatic Injury in Rats Through Alarmin High-Mobility Group Box-1 Pathway by *Ganoderma lucidum*: Theoretical and Experimental Study. **Drug Des Devel Ther.** 14:2335-2353, 2020. doi: 10.2147/DDDT.S249093.

HAZELHOFF, M.H.; TORRES, A.M. Gender differences in mercury-induced hepatotoxicity: potential mechanisms. **Chemosphere**, v. 202, p. 330-338, 2018.

HE G, KARIN M. NF- κ B and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. **Cell Res.** 21(1):159-68, 2011. doi: 10.1038/cr.2010.183.

HESHAM, A. AHMED; GHOBARA, MOHAMED M. Histological study of the effect of cisplatin on the liver of adult male albino rat. **International Journal of Academic and Scientific Research**, v. 1, n. 1, p. 22-33, 2013.

HOSSEINI HM. *et al.* Ameliorative effects of high intensity interval training and *Lactobacillus rhamnosus GG* Protect against tetracycline-induced fatty liver in rats: a gene expression profiling comparative study. **EXCLI J.** 21:991-1006, 2022. doi: 10.17179/excli2022-4791.

HU, N. *et al.* Phillygenin inhibits LPS-induced activation and inflammation of LX2 cells by TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. **Journal of ethnopharmacology**, v. 248, p. 112361, 2020.

HUBER Y, *et al.* Voluntary distance running prevents TNF-mediated liver injury in mice through alterations of the intrahepatic immune milieu. **Cell Death Dis.** 2017. doi: 10.1038/cddis.2017.266.

HUNT CM. *et al.* Drug rechallenge following drug-induced liver injury. **Hepatology.** 2017. doi:10.1002/hep.29152

INCA- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estatística de Câncer** (2021). Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>

INGAWALE, D.K.; MANDLIK, S.K.; NAIK, S.R. Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanism(s): a critical discussion. **Environ Toxicol Pharmacol.** 37(1):118-33, 2014. doi: 10.1016/j.etap.2013.08.015.

ISHIBE, T. *et al.* Reduced acetaminophen-induced liver injury in mice by genetic disruption of IL-1 receptor antagonist. **Laboratory investigation**, v. 89, n. 1, p. 68-79, 2009.

IWAKIRI Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase. **Clin Mol Hepatol.** 21(4):319-325, 2015. doi:10.3350/cmh.2015.21.4.319

JABLONSKI K.A. *et al.* Novel Markers to Delineate Murine M1 and M2 Macrophages. **PLoS One**. 10(12):e0145342, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0145342.

JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. **Chem. Rev.** 99, 2467–2498, 1999.

JANG, H.R., RABB, H. Immune cells in experimental acute kidney injury. **Nat. Rev. Nephrol.** 11, 88-101, 2015.

JELLEYMAN, C. *et al.* The effects of high-intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta-analysis. **Obesity Reviews** 16(11):942e961, 2015.

JEONG JH. *et al.* The effects of either resveratrol or exercise on macrophage infiltration and switching from M1 to M2 in high fat diet mice. **J Exerc Nutrition Biochem.** 19(2):65-72, 2015. doi: 10.5717/jenb.2015.15060203.

JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. **Chem. Rev.** 107, 1387–1407, 2007.

KAMPSHOFF, C., S. *et al.* Randomized controlled trial of the effects of high intensity and low-to-moderate intensity exercise on physical fitness and fatigue in cancer survivors: results of the Resistance and Endurance exercise After ChemoTherapy (REACT) study. **BMC Med**, v. 29, n. 13, 2015.

KAWAGUCHI, T. *et al.* Hybrid training of voluntary and electrical muscle contractions reduces steatosis, insulin resistance, and IL-6 levels in patients with NAFLD: A pilot study. **Journal of Gastroenterology**, 46, 746–757, 2011.

KAWANISHI, N.; YANO, H.; MIZOKAMI, T.; TAKAHASHI, M.; OYANAGI, E.; SUZUKI, K. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice. **Brain Behav Immun.** 2012 Aug;26(6):931-41. doi: 10.1016/j.bbi.2012.04.006. Epub 2012 Apr 23. PMID: 22554494.

KERR, J.; ANDERSON, C.; LIPPMAN, S. M. Physical activity, sedentary behaviour, diet, and cancer: an update and emerging new evidence. **The lancet oncology.** v. 18, n. 8, p. e457–e471, 2017

KHEDR L.H. *et al.* Crocin attenuates cisplatin-induced hepatotoxicity via TLR4/NF-κBp50 signaling and BAMBI modulation of TGF-β activity: Involvement of miRNA-9 and miRNA-29. **Food Chem Toxicol.** 140:111307, 2020 . doi: 10.1016/j.fct.2020.111307.

KHOSRAVI M,S. *et al.* Hydration with Mannitol and Dextrose May Promote Cisplatin-Induced Nephrotoxicity: Test of Five Protocols of Hydration during Cisplatin Therapy in Rat Models. **J Toxicol.** 2021:5547341, 2021. doi: 10.1155/2021/5547341.

KOCIBA, R. J.; SLEIGHT, S. D. Acute toxicologic and pathologic effects of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875) in male rat. **Cancer Chemother. Rep.** 55, 1–8, 1971.

KONO H, ROCK KL. How dying cells alert the immune system to danger. **Nat Rev Immunol.** 8: 279–289, 2008.

KOPPELMAN B. *et al.* Interleukin-10 down-regulates MHC class II alphabeta peptide complexes at the plasma membrane of monocytes by affecting arrival and recycling. **Immunity.** 7(6):861-871, 1997. doi:10.1016/s1074-7613(00)80404-5

KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. **Nat Rev Immunol.** 17(5):306-321, 2017. doi:10.1038/nri.2017.11

LAUNAY-VACHER, V. *et al.* Prevention of cisplatin nephrotoxicity: state of the art and recommendations from the European Society of Clinical Pharmacy Special Interest Group on Cancer Care. **Cancer Chemother. Pharmacol.** 61, 903–909, 2008.

LAYTON AT, SULLIVAN JC. Recent advances in sex differences in kidney function. **Am J Physiol Renal Physiol.** 316(2):F328-F331, 2019. doi: 10.1152/ajprenal.00584.2018.

LEE JW. *et al.* Role of IL-1 α in cisplatin-induced acute renal failure in mice. **Korean J Intern Med.** 26(2):187-94, 2011 . doi: 10.3904/kjim.2011.26.2.187.

LEE, W.B. *et al.* Mincle-mediated translational regulation is required for strong nitric oxide production and inflammation resolution. **Nat. Commun.** 7, 11322, 2016.

LEITE, A. B. *et al.* High-intensity interval training is more effective than continuous training to reduce inflammation markers in female rats with cisplatin nephrotoxicity. **Life Sciences,** v. 266, p. 118880, 2021.

LI, W. *et al.* Human primary renal cells as a model for toxicity assessment of chemotherapeutic drugs. **Toxicol in vitro,** Oxford, v.20,n.5, p. 669-676, 2006.

LI Q. *et al.* Irisin alleviates LPS-induced liver injury and inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome and NF- κ B signaling. **J Recept Signal Transduct Res.** 41(3):294-303, 2021. doi: 10.1080/10799893.2020.1808675.

LIMA-POSADA I. *et al.* Gender Differences in the Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease Transition. **Sci Rep.** 7(1):12270, 2017. doi: 10.1038/s41598-017-09630-2..

LIN D. *et al.* Secreted IL-1 α promotes T-cell activation and expansion of CD11b(+) Gr1(+) cells in carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. **Eur J Immunol.** 45(7):2084-98, 2015. doi: 10.1002/eji.201445195.

- LINDEN, M.A. *et al.* Aerobic exercise training in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease related fibrosis. **Journal of Physiology** 594(18): 5271e5284, 2016.
- LITTLE, J.P. *et al.* Effects of high-intensity interval exercise versus continuous moderate-intensity exercise on postprandial glyceic control assessed by continuous glucose monitoring in obese adults. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**. 39(7):835e841, 2014.
- LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**. 25(4):402-8, 2001. doi: 10.1006/meth.2001.1262.
- LU Y.; CEDERBAUM AI. Cisplatin-induced hepatotoxicity is enhanced by elevated expression of cytochrome P450 2E1. **Toxicol Sci**. 89(2):515-23, 2006. doi: 10.1093/toxsci/kfj031.
- LU RJ. *et al.* Clinical characteristics of drug-induced liver injury and related risk factors. **Exp Ther Med** 12(4):2606–2616, 2016. doi:10.3892/etm.2016.3627
- MA, X. *et al.* Puerarin attenuates cisplatin-induced rat nephrotoxicity: The involvement of TLR4/NF-κB signaling pathway. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171612, 2017.
- MAEDA S. *et al.* IKKbeta couples hepatocyte death to cytokine-driven compensatory proliferation that promotes chemical hepatocarcinogenesis. **Cell**.;121:977–990, 2005.
- MANOHAR, S.; LEUNG, N. Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature. **Journal of nephrology**, v. 31, n. 1, p. 15-25, 2018.
- MANSOUR, H.H.; HAFEZ, H.F.; FAHMY, N.M. Silyman modulates cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. **J Biochem Mol Biol.**, Seoul Korean, v.39, n. 6, p. 656-61, 2006.
- MARCOS R. *et al.* Stereological assessment of sexual dimorphism in the rat liver reveals differences in hepatocytes and Kupffer cells but not hepatic stellate cells. **J Anat**. Jun;228(6):996-1005, 2016. doi: 10.1111/joa.12448.
- MARTINEZ, F. O. Regulators of macrophage activation. **Eur J Immunol** 41, 1531–34, 2011.
- MARTINS NM, SANTOS NA, CURTI C, BIANCHI ML, SANTOS AC. Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. **J Appl Toxicol**. 28(3):337-44, 2008. doi: 10.1002/jat.1284.
- MARTLAND R. *et al.* Can high-intensity interval training improve physical and mental health outcomes? A meta-review of 33 systematic reviews across the lifespan. **J Sports Sci**. 38(4):430-469, 2020 . doi: 10.1080/02640414.2019.1706829.

MENNECOZZI M. *et al.* Sex differences in liver toxicity-do female and male human primary hepatocytes react differently to toxicants in vitro? **PLoS One**. 10(4):e0122786, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0122786.

MIYAGI, M.Y., *et al.* Long-term aerobic exercise protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by modulating the expression of IL-6 and HO-1. **PLoS One**. v. 9 n.10, e108543, 2014.

NAGAKAWA, J. *et al.* Interleukin-1 alpha enhances hepatotoxicity of tumor necrosis factor-alpha in galactosamine-sensitized mice. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, 13(4), 485–498, 1991. doi:10.3109/08923979109019718

NASR, ASHRAF Y. "Morphological, biochemical, histological, and ultrastructural protective effects of misoprostol on cisplatin induced-hepatotoxicity in adult male rats." **Saudi Med J** 34.12, 1237-47, 2013.

NEMATBAKHS M. *et al.* Gender difference in Cisplatin-induced nephrotoxicity in a rat model: greater intensity of damage in male than female. **Nephrourol Mon**. 5(3):818-21, 2013. doi: 10.5812/numonthly.10128.

NEUGARTEN J, GOLESTANEH L. Sex Differences in Acute Kidney Injury. **Semin Nephrol**. 2022 Mar;42(2):208-218. doi: 10.1016/j.semnephrol.2022.04.010. PMID: 35718367.

NJOKU, D. B. *et al.* Suppressive and pro-inflammatory roles for IL-4 in the pathogenesis of experimental drug-induced liver injury. **Eur J Immunol** 39, 1652–63, 2009.

OH, G. S. *et al.* Cisplatin-induced Kidney Dysfunction and Perspectives on Improving Treatment Strategies. In: **Electrolyte Blood Press**, v.12, n. 2, p. 55-65, 2014.

OLIVEIRA C.A. *et al.* Benefits of high-intensity interval training compared to continuous training to reduce apoptotic markers in female rats with cisplatin nephrotoxicity - possible modulatory role of IL-11. **Apoptosis**. 28(3-4):566-575, 2023. doi: 10.1007/s10495-023-01816-6.

OMAR H.A. *et al.* Tangeretin Alleviates Cisplatin-Induced Acute Hepatic Injury in Rats: Targeting MAPKs and Apoptosis. **PLoS One**. 11(3):e0151649, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0151649

OSALI A. Aerobic exercise and nano-curcumin supplementation improve inflammation in elderly females with metabolic syndrome. **Diabetol Metab Syndr**. 12:26, 2020. doi:10.1186/s13098-020-00532-4

OSURU HP. *et al.* Moderate exercise-induced dynamics on key sepsis-associated signaling pathways in the liver. **Crit Care**. 27(1):266, 2023. doi:10.1186/s13054-023-04551-1

OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. **Dalton transactions**, v. 47, n. 19, p. 6645-6653, 2018.

PAFFENBARGER, R. S. J.; HYDE, R.T.; WING, A.L.; HSIEH, C.C. Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni, **N. Engl. J. Med.** v. 314, p. 605–613, 1986.

PELLO, O. M. *et al.* A glimpse on the phenomenon of macrophage polarization during atherosclerosis. **Immunobiology** 216, 1172–76, 2011.

PERES LA, DA CUNHA AD JR. Acute nephrotoxicity of cisplatin: molecular mechanisms. **J Bras Nefrol.** 35(4):332-40, 2013. doi: 10.5935/0101-2800.20130052.

PEZESHKI, Z. *et al.* Evidence Against Protective Role of Sex Hormone Estrogen in Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Ovariectomized Rat Model. **Toxicology International** v. 20, n. 1, p. 43-47, 2013.

PIGHON A. *et al.* Exercise training in ovariectomized rats stimulates estrogenic-like effects on expression of genes involved in lipid accumulation and subclinical inflammation in liver. **Metabolism.**;60(5):629-639, 2011. doi:10.1016/j.metabol.2010.06.012

PINTO AL, LIPPARD SJ. Binding of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) (cisplatin) to DNA. 4. 780(3):167-80, 1985. doi: 10.1016/0304-419x(85)90001-0.

PRATIBHA, R. *et al.* Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. **Eur J Pharmacol.** 532(3):290-3, 2006. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.01.007.

PAUNOVIĆ, M., G. *et al.* Evaluation of Toxic Effects of Novel Platinum (IV) Complexes in Female Rat Liver: Potential Protective Role of Resveratrol, **Cell Biochemistry and Biophysics**, 2020.

POLYZOS SA. *et al.* Menopausal Hormone Therapy in Women With Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Hormones (Athens).** 2022. doi: 10.1007/s42000-022-00369-8

QI, L., *et al.* Advances in toxicological research of the anticancer drug cisplatin. **Chemical research in toxicology**, v. 32, n. 8, p. 1469-1486, 2019.

QU, X. *et al.* Astragaloside IV protects against cisplatin-induced liver and kidney injury via autophagy-mediated inhibition of NLRP3 in rats. **Journal of Toxicological Sciences**, v. 44, n. 3, p. 167–175, 2019.

QUINTANILHA, J. C.F. *et al.* Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: implications for toxicity. **Cancer Chemother. Pharmacol.** 80, 223–233, 2017.

RAHMAN N. *et al.* M1/M2-macrophage Polarization-based Hepatotoxicity in d-galactosamine-induced Acute Liver Injury in Rats. **Toxicol Pathol.** 46(7):764-776, 2018. doi: 10.1177/0192623318801574.

RAMESH G, REEVES WB. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. **Am J Physiol Renal Physiol.** 285(4):F610-F618, 2003. doi:10.1152/ajprenal.00101.2003

RASHID N.A. *et al.* Polygonum minus essential oil modulates cisplatin-induced hepatotoxicity through inflammatory and apoptotic pathways. **Excli J.** 19:1246-1265, 2020. doi:10.17179/excli2020-2355

REHMAN M.U. *et al.* Alleviation of hepatic injury by chrysin in cisplatin administered rats: probable role of oxidative and inflammatory markers. **Pharmacol Rep.** 66(6):1050-1059, 2014. doi:10.1016/j.pharep.2014.06.004

RODRÍGUEZ-ITURBE, B. *et al.* Oxidative Stress, Renal Infiltration of Immune Cells, and Salt-Sensitive Hypertension: all for one and one for all. In: **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 286, n. 4, p. 606-F616, 2004.

ROGERS, N.M. *et al.* Dendritic cells and macrophages in the kidney: a spectrum of good and evil. **Nat. Rev. Nephrol.** 10, 625-643, 2014.

ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature**, v. 205, n. 4972, p. 698-699, 1965.

SABAG A, LITTLE JP, JOHNSON NA. Low-volume high-intensity interval training for cardiometabolic health. **J Physiol.** 2021. doi:10.1113/jp281210

SABAT, R. IL-10 family of cytokines. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 21, n. 5, p. 315-324, 2010.

SAKAMOTO M. *et al.* Improvement of Portal Hypertension and Hepatic Blood Flow in Cirrhotic Rats by Oestrogen. **Eur J Clin Invest** 35:220–5, 2005. doi: 10.1111/j.1365-2362.2005.01476.x

SAKURAI T. *et al.* Hepatocyte necrosis induced by oxidative stress and IL-1 alpha release mediate carcinogen-induced compensatory proliferation and liver tumorigenesis. **Cancer Cell.** 14(2):156-65, 2008. doi: 10.1016/j.ccr.2008.06.016.

SALERNI S. *et al.* The different role of sex hormones on female cardiovascular physiology and function: not only oestrogens. **Eur J Clin Invest.** 45(6):634-45, 2015. doi: 10.1111/eci.12447.

SALLIS, R. *et al.* Strategies for promoting physical activity in clinical practice. **Prog Cardiovasc Dis.** v. 57, n. 4, p. 375-86, 2015.

SAMPAIO IBM. Estatística Aplicada À Experimentação Animal. 3.ed. Belo Horizonte: FEP MVZ; 2007.

SATAPATHY, S.K. *et al.* Drug-induced fatty liver disease: An overview of pathogenesis and management. **Ann Hepatol.** 14(6):789-806, 2015. doi: 10.5604/16652681.1171749.

SHEIKH R. *et al.* Moderate and high-intensity interval training protect against diabetes-induced modulation of hepatic CD86 and CD206 expression associated with the amelioration of insulin resistance and inflammation in rats. **Immunobiology.** 228(6):152745, 2023. doi:10.1016/j.imbio.2023.152745

SHI, P. *et al.* Avicularin alleviates acute liver failure by regulation of the TLR4/MyD88/NF- κ B and Nrf2/HO-1/GPX4 pathways to reduce inflammation and ferroptosis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 27, n. 21, p. 3326-3338, 2023.

SICA A, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **J Clin Invest.** 122(3):787-95, 2012. doi: 10.1172/JCI59643.

SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. **Oncogene** 22, 7265–7279, 2003

SILVA L.L.S. *et al.* Effects of Aerobic Exercise Protocol on Genes Related to Insulin Resistance and Inflammation in the Pancreas of ob/ob Mice with NAFLD. **Clin Exp Gastroenterol.** 13:223-234, 2020. doi:10.2147/CEG.S242393

SOLTANI, N. *et al.* Assessment of the effect of short-term combined high-intensity interval training on TLR4, NF- κ B and IRF3 expression in young overweight and obese girls. **Public Health Genomics**, v. 23, n. 1-2, p. 26-36, 2020.

SOLTANI, N. *et al.* Resistance exercise training augments the immunomodulatory adaptations to aerobic high-intensity interval training: HIIT prescription, TLR4 pathway, and negative regulatory proteins. **European Journal of Sport Science**, p. 1-24, 2023.

STEWART, D.J.; BENJAMIN, R. S.; LUNA, M. Human tissue distribution of platinum after cis-diamminedichloroplatinum. **Cancer Chemother. Pharmacol.** 10, 51–54, 1982

STIRNIMANN G, KESSEBOHM K, LAUTERBURG B. Liver injury caused by drugs: an update. **Swiss Med Wkly.** 140:w13080, 2010. doi: 10.4414/smw.2010.13080.

SULTANOVA RF. *et al.* Sex differences in renal mitochondrial function: a hormone-gous opportunity for research. **Am J Physiol Renal Physiol.** 319(6):F1117-F1124, 2020. doi: 10.1152/ajprenal.00320.2020.

SUN, M. *et al.* Aerobic Exercise Ameliorates Liver Injury in Db/Db Mice by Attenuating Oxidative Stress, Apoptosis and Inflammation Through the Nrf2 and JAK2/STAT3 Signalling Pathways. **Journal of Inflammation Research**, p. 4805-4819, 2023.

TADAGAVADI RK, REEVES WB. Endogenous IL-10 attenuates cisplatin nephrotoxicity: role of dendritic cells. **J Immunol.** 185(8):4904-4911, 2010. doi:10.4049/jimmunol.1000383

THOMPSON, W. R. *et al.* Exercise Is Medicine. **Am J Lifestyle Med.** v. 14 n. 5, p. 511-523, 2020.

TOTHILL, P. *et al.* The long-term retention of platinum in human tissues following the administration of cisplatin or carboplatin for cancer chemotherapy. **Eur J Cancer.** 28A(8-9):1358-61, 1992. doi: 10.1016/0959-8049(92)90519-8.

TOYODA Y. *et al.* Mechanism of Exacerbative Effect of Progesterone on Drug-Induced Liver Injury. **Toxicol Sci** 126:16–27, 2012. doi: 10.1093/toxsci/kfr326

TSANG RY, AL-FAYEA T, AU HJ. Cisplatin overdose: toxicities and management. **Drug Saf.** 32(12):1109-1122, 2009. doi:10.2165/11316640-000000000-00000

UEBI T, UMEDA M, IMAI T. Estrogen Induces Estrogen Receptor Alpha Expression and Hepatocyte Proliferation in the Livers of Male Mice. **Genes Cells** 20:217–23, 2015. doi: 10.1111/gtc.12214

UEHARA, T. *et al.* Comparative Nephrotoxicity of Cisplatin and Nedaplatin: Mechanisms and Histopathological Characteristics. In: **J Toxicol Pathol**, v. 24, p. 87–94, 2011.

UN, H. *et al.* A novel effect of Aprepitant: Protection for cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity, **European Journal of Pharmacology**, v. 880, 2020.

VASILI, A. *et al.* The effect of aerobic exercise on hepatotoxicity induced by intratracheal instillation of iron oxide nanoparticles in Wistar rats. **Gen Physiol Biophys.** 35(1):35-43, 2016. doi: 10.4149/gpb_2015031.

WANG, D.; LIPPARD, S.J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat Ver. Rug Discov.**, London, v.4, n. 4, p. 307-20, 2005.

WANG, F. *et al.* Kinetics of aquation and anation of Ruthenium(II) arene anticancer complexes, acidity and X-ray structures of aqua adducts. **Chem. - Eur. J.** 9, 5810–5820, 2003.

WANG G. *et al.* Resveratrol mitigates lipopolysaccharide-mediated acute inflammation in rats by inhibiting the TLR4/NF- κ B/p65/MAPKs signaling cascade. **Sci Rep.** 7:45006, 2017. doi: 10.1038/srep45006.

WANG, N. *et al.* High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. **Life sciences**, 191, 122–131, 2017. doi: 10.1016/j.lfs.2017.08.023

WANG, L. *et al.* Berberine inhibits liver damage in rats with non-alcoholic fatty liver disease by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway. **The Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 31, n. 12, p. 902, 2020.

WANG W.W. *et al.* IL-10 from dendritic cells but not from T regulatory cells protects against cisplatin-induced nephrotoxicity. **PLoS One.** 15(9), 2020. doi:10.1371/journal.pone.0238816

WANG, Y. *et al.* HIIT Ameliorates Inflammation and Lipid Metabolism by Regulating Macrophage Polarization and Mitochondrial Dynamics in the Liver of Type 2 Diabetes Mellitus Mice. **Metabolites**, 13(1), 14, 2022. doi: 10.3390/metabo13010014

WANG T. *et al.* FNDC5/Irisin Inhibits the Inflammatory Response and Mediates the Aerobic Exercise-Induced Improvement of Liver Injury after Myocardial Infarction. **Int J Mol Sci.** 24(4):4159, 2023. doi: 10.3390/ijms24044159.

WANG Y.H. *et al.* The high level of IL-1 β in the serum of ACLF patients induces increased IL-8 expression in hUC-MSCs and reduces the efficacy of hUC-MSCs in liver failure. **Stem Cell Res Ther.** 14(1):231, 2023. doi: 10.1186/s13287-023-03455-9.

WASEEM, M. *et al.* Cisplatin hepatotoxicity mediated by mitochondrial stress. **Drug Chem. Toxicol.** 38, 452–459, 2015.

WEILER N. *et al.* The Epidemiology of Acute Liver Failure. **Dtsch Arztebl Int.** 117(4):43-50, 2020. doi: 10.3238/arztebl.2020.0043.

WERMAN A, *et al.* The precursor form of IL-1 α is an intracrine proinflammatory activator of transcription. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 101(8):2434-9, 2004. doi: 10.1073/pnas.0308705101.

WIJESUNDERA K.K. *et al.* M1- and M2-macrophage polarization in thioacetamide (TAA)-induced rat liver lesions; a possible analysis for hepato-pathology. **Histol Histopathol.** 29(4):497-511, 2014. doi: 10.14670/HH-29.10.497.

WOLF E. *et al.* Vascular type 1 angiotensin receptors control blood pressure by augmenting peripheral vascular resistance in female mice. **Am J Physiol Renal Physiol.** Oct 1;315(4):F997-F1005, 2018. doi: 10.1152/ajprenal.00639.2017.

XU L. *et al.* The Hepatoprotective and Hepatotoxic Roles of Sex and Sex-Related Hormones. **Front Immunol.** 13:939631, 2022. doi: 10.3389/fimmu.2022.939631.

YANG X. *et al.* 17 β -Estradiol protects the liver against cold ischemia/reperfusion injury through the Akt kinase pathway. **J Surg Res.** 178(2):996-1002. doi: 10.1016/j.jss.2012.07.007, 2012.

YAO, L. *et al.* Piceatannol alleviates liver ischaemia/reperfusion injury by inhibiting TLR4/NF- κ B/NLRP3 in hepatic macrophages. **European Journal of Pharmacology**, v. 960, p. 176149, 2023.

YAO J. *et al.* Effect of aerobic and resistance exercise on liver enzyme and blood lipids in Chinese patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. **Int J Clin Exp Med** 11(5):4867–4874, 2018.

YAZDANI HO. *et al.* Exercise Training Decreases Hepatic Injury and Metastases Through Changes in Immune Response to Liver Ischemia/Reperfusion in Mice. **Hepatology**. 73(6):2494-2509, 2021. doi: 10.1002/hep.31552.

YILMAZ, H.R. *et al.* The activities of liver adenosine deaminase, xanthine oxidase, catalase, superoxide dismutase enzyme and the levels of malondialdehyde and nitric oxide after cisplatin toxicity in rats: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. **Toxicol. Ind. Health** 21,67–73, 2005.

YU, Y. *et al.* Exercise alleviates the apolipoprotein A5-toll-like receptor 4 axis impairment in mice with high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis. **Frontiers in Physiology**, v. 12, p. 783341, 2021.

YU, Y. *et al.* Moderate exercise relieves fluoride-induced liver and kidney inflammatory responses through the IKK β /NF κ B pathway. **Environ Sci Pollut Res** 29, 78429–78443, 2022. doi: 10.1007/s11356-022-21360-1

YU X. *et al.* Comparative efficacy of exercise training processes in improving nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. **Ir J Med Sci**. 192(1):131-142, 2023. doi: 10.1007/s11845-022-02988-x.

ZEYNALI F, NOROOZI J, PEZESHKI Z, NEMATBAKHS M. Sex-related Difference in Protective Role of Aerobic Exercise against Cisplatin-induced Hepatotoxicity. **Int J Prev Med**. 2016;7:84. Published 2016 Jun 20. doi:10.4103/2008-7802.184312

ZHANG B. *et al.* TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity. **J Am Soc Nephrol**. 19: 923–932, 2008.

ZHANG, C. *et al.* Macrophage-derived IL-1 α promotes sterile inflammation in a mouse model of acetaminophen hepatotoxicity. **Cellular & molecular immunology**, 15(11), 973–982, 2018. doi: 10.1038/cmi.2017.22

ZHOU D. *et al.* Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways. **Cell Signal**. 26(2):192-197, 2014. doi:10.1016/j.cellsig.2013.11.004

ZHOU X. *et al.* Dihydromyricetin-Encapsulated Liposomes Inhibit Exhaustive Exercise-Induced Liver Inflammation by Orchestrating M1/M2 Macrophage Polarization. **Front Pharmacol**. 13:887263, 2022. doi: 10.3389/fphar.2022.887263.

ZHU W. *et al.* Exercise-Induced Irisin Decreases Inflammation and Improves NAFLD by Competitive Binding with MD2. **Cells**. 10(12):3306, 2021. doi: 10.3390/cells10123306.

ZIMMERMANN H.W. *et al.* Interleukin-8 is activated in patients with chronic liver diseases and associated with hepatic macrophage accumulation in human liver fibrosis. **PLoS One**. 6(6):e21381, 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0021381.