

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JHONNY MARTINS STAINSACK

EXERCÍCIO FÍSICO INICIADO PRECOCEMENTE ATENUA EM MÉDIO E LONGO
PRAZOS OS EFEITOS DA OBESIDADE INDUZIDA EM RATOS POR
PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

CURITIBA

2017

JHONNY MARTINS STAINSACK

EXERCÍCIO FÍSICO INICIADO PRECOCEMENTE ATENUA EM MÉDIO E LONGO
PRAZO OS EFEITOS DELETÉRIOS DA OBESIDADE INDUZIDA EM RATOS POR
PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Fisiologia, ao
Programa de Pós-graduação em Fisiologia, Setor
de Ciências Biológicas, Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcia Helena Appel.

CURITIBA

2017

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Rosilei Vilas Boas – CRB/9-939).

Stainsack, Jhonny Martins.

Exercício físico iniciado precocemente atenua em médio e longo prazos os efeitos da obesidade induzida em ratos por programação metabólica. / Jhonny Martins Stainsack. – Curitiba, 2017.
69 f. : il. ; 30cm.

Orientador: Luiz Cláudio Fernandes.

Coorientadora: Marcia Helena Appel.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

1. Obesidade. 2. Exercícios físicos. 3. Treinamento. I. Título. II. Fernandes, Luiz Cláudio. III. Appel, Marcia Helena. IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

CDD (20. ed.) 612.76



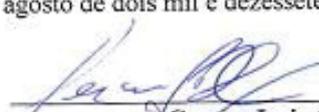
Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



Ata da defesa de dissertação de mestrado de JHONNY MARTINS STAINSACK

Aos 30 dias do mês de agosto do ano de dois mil e dezessete, foi realizada na Sala 03 do departamento de Farmacologia no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, a defesa de dissertação do mestrando JHONNY MARTINS STAINSACK, intitulada "EXERCÍCIO FÍSICO INICIADO PRECOCEMENTE ATENUA EM MÉDIO E LONGO PRAZOS OS EFEITOS DA OBESIDADE INDUZIDA EM RATOS POR PROGRAMAÇÃO METABÓLICA". A abertura teve início às 14h00min pelo Presidente da Banca Examinadora e Orientador do candidato, Professor Doutor Luiz Cláudio Fernandes. O Presidente apresentou ao público presente os membros da banca examinadora e logo passou à palavra ao aluno, para que fizesse uma apresentação sucinta de sua dissertação. Após a explanação oral, o Professor Doutor Luiz Cláudio Fernandes passou à palavra ao primeiro examinador, Professor Doutor Gerson Luiz Cleto Dal Col da FDB. Na sequência, passou à palavra a segunda examinadora, Professora Doutora Fabíola Iagher do Departamento de Fisiologia da UFPR. O aluno respondeu as perguntas dos examinadores e se posicionou frente às críticas. Findas as arguições pelos demais membros da banca, o Presidente, Professor Doutor Luiz Cláudio Fernandes fez uma rápida apreciação das conclusões mais importantes dos debates realizados e comunicou que a Banca Examinadora iria reunir-se em sessão secreta para discussão e atribuição dos conceitos. Os trabalhos foram interrompidos por cinco minutos. Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, os membros da banca examinadora reunidos em sessão secreta deliberaram pela "aprovação", habilitando-o ao título de Mestre em Fisiologia, condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Art. 59º do Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação. Eu, Luiz Cláudio Fernandes, Presidente da Banca Examinadora lavrei a presente ata, a qual assino juntamente com os senhores examinadores.

Curitiba, 30 de agosto de dois mil e dezessete.


Gerson Luiz Cleto Dal Col
FDB- Membro Titular


Professora Doutora Fabíola Iagher
UFPR - Membro Titular


Professor Doutor Luiz Cláudio Fernandes

Centro Politécnico – Caixa Postal 19031 – CEP: 81531-990 – Curitiba/PR
Telefones: (41) 3361-1714 – Fax (41) 3361-1714 – fisiologia@ufpr.br
www.bio.ufpr.br



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



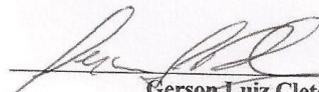
IPPP – Coorientador e Presidente da Banca Examinadora

PARECER

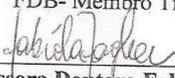
Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **JHONNY MARTINS STAINSACK** para fins de obter o título de Mestre em Fisiologia pela Universidade Federal do Paraná, são de parecer unânime à aprovação do acadêmico.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação:

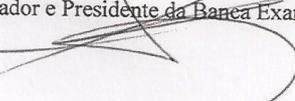
Curitiba, 30 de agosto de dois mil e dezessete.



Gerson Luiz Cleto Dal Col
FDB- Membro Titular



Professora Doutora Fabíola Iagher
UFPR - Membro Titular



Professor Doutor Luiz Cláudio Fernandes
IPPP – Coorientador e Presidente da Banca Examinadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por conceder-nos a vida, a possibilidade de raciocinar e principalmente paciência, imprescindível durante absolutamente toda a pós-graduação.

Ao professor Dr. Luiz Cláudio Fernandes, por aceitar orientar meu trabalho, mesmo estando sobrecarregado pela rotina exaustiva da direção do Setor. Agradeço também, por seus ensinamentos "não científicos", como humildade e praticidade em tudo.

Agradeço imensamente à "mãe acadêmica", professora Dr^a Marcia Helena Appel, por ter me ensinado basicamente tudo o que sei hoje sobre laboratório, centrífugas, microscópios, células, cálculos, história, psicologia, eletricidade, imunologia, astronomia, estatística, filosofia, alimentação, geografia e bons modos. Pelo auxílio em todos os experimentos e na busca por reagentes, pelas broncas, que muito se assemelhavam às que recebi em casa, e por dividir comigo um pouco de seu desproporcional conhecimento durante esses dois anos.

Às professoras: Dr^a Fabíola Iagher e Dr^a Katya Naliwaiko, pela ajuda na elaboração do projeto e esclarecimento de dúvidas relativas a técnicas laboratoriais ou mesmo fisiologia.

Aos companheiros de LabMetab: Stefani, por todos os ensinamentos sobre o modelo experimental, cuidados com os ratos e técnicas a serem realizadas; Larisson, Stephanie, Débora, Andressa, Igor, Juliana Schleder, Dagliane, Dr^a Camila Marques, Dr. Ricardo Tanhoffer e Aldre, pela companhia em momentos de desespero em algumas disciplinas cursadas, pelas discussões produtivas sobre temas importantes, e especialmente pelos momentos hilariantes vividos na bancada, onde as mentes esvaziavam-se e a cultura inútil permeava todo o ambiente.

Aos agregados ao LabMetab: Amanda, pelo auxílio em experimentos e na estatística dos dados; Diego, por estar disposto a ajudar quando precisei, e simplesmente pelo exemplo que deu, como doutorando.

A meu mentor e professor, Dr. Gerson L. C. Dal Cól, por quem tenho grande admiração desde o terceiro período de graduação, quando assisti suas primeiras aulas. Por acreditar em minha capacidade, me mostrar o caminho da ciência, e pelos conselhos "pós-aula", que um dia me conduziram ao mestrado.

Ao grande amigo de faculdade Heric, pela parceria, pelo incentivo e apoio em

todas as horas, e por estar sempre disposto a me ajudar com o que tinha em mãos.

Por fim, agradeço especialmente à minha família: a meu pai Jonas, por ser um modelo de homem para mim, por sempre responder a todas as minhas dúvidas, até mesmo sobre minha própria área de atuação, por me buscar e me levar a todos os lugares sempre que foi preciso, e por nunca desistir de me ensinar. À minha mãe Beth, por não pensar duas vezes quando precisou abster-se de seus próprios interesses para que eu tivesse o melhor, por demonstrar amor em tudo o que faz por mim, e por me incentivar a estudar sempre. À minha irmã Aline e meu cunhado João Victor, por serem tão generosos e receptivos, por estarem sempre prontos a me ajudar, fosse com lanchinhos, caronas ou apenas conversas, e também pelo socorro na batalha contra as máquinas, afinal quando o computador parecia ter vencido, Aline aparecia pra me dizer o que fazer. À minha avó Ondina, por cada uma das inúmeras vezes em que mencionou meu nome em suas orações, por não poupar esforços e nem seus joelhos por mim. À minha namorada e futura esposa Flavia, por me tornar mais homem a cada dia, por me ensinar a ser mais responsável, por estar sempre me esperando com sorrisos e muito carinho após os fracassos, e por acreditar em mim mais do que eu mesmo, convencendo-me de que sou melhor do que penso.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento Experimental.....	23
Figura 2 - Massa Corporal do grupo G60 aos 7 dias de vida.....	26
Figura 3 - Massa Corporal do grupo G90 aos 7 dias de vida.....	27
Figura 4 - Massa Corporal do grupo G60 aos 14 dias de vida.....	28
Figura 5 - Massa Corporal do grupo G90 aos 14 dias de vida.....	28
Figura 6 - Massa Corporal do grupo G60 aos 21 dias de vida.....	29
Figura 7 - Massa Corporal do grupo G90 aos 21 dias de vida.....	30
Figura 8 - Índices de Lee do grupo G60 aos 21 dias de vida.....	31
Figura 9 - Índices de Lee do grupo G90 aos 21 dias de vida.....	31
Figura 10 - Índice de Lee dos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G60 aos 60 dias de vida.....	30
Figura 11 - Índice de Lee dos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G90 aos 90 dias de vida.....	31
Figura 12 - Massa relativa do tecido adiposo mesentérico dos ratos G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	33
Figura 13 - Massa relativa do tecido adiposo retroperitoneal dos ratos G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	33
Figura 14 - Massa relativa do tecido adiposo perigonadal dos ratos G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	34

Figura 15 - Massa relativa do tecido adiposo marrom dos ratos G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	34
Figura 16 - Massa relativa do tecido adiposo mesentérico dos ratos G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	35
Figura 17 - Massa relativa do tecido adiposo retroperitoneal dos ratos G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	36
Figura 18 - Massa relativa do tecido adiposo perigonadal dos ratos G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	37
Figura 19 - Massa relativa do tecido adiposo marrom dos ratos G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE).....	37
Figura 20 - Evolução da massa corporal dos animais G60 após a lactação.....	39
Figura 21 - Evolução da massa corporal dos animais G90 após a lactação.....	40
Figura 22 - Consumo alimentar do grupo G60, em função do tempo.....	42
Figura 23 - Teste de tolerância à insulina nos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G60, aos 56 dias de vida.....	43
Figura 24 - Teste de tolerância à insulina nos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G90, aos 86 dias de vida.....	44
Figura 25 - Teste de tolerância à glicose nos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G60, aos 58 dias de vida.....	45

Figura 26 - Teste de tolerância à glicose nos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE) do grupo G90, aos 88 dias de vida.....46

LISTA DE ABREVIATURAS

AF - Atividade Física

AMP - Monofosfato de Adenosina

AMPK - Proteína quinase ativada por AMP

ARC - Núcleo hipotalâmico Arqueado

ASC - Área Sob a Curva

AVC - Acidente Vascular Cerebral

CaMKII - Proteína quinase dependente de Cálcio/Calmodulina tipo 2

CC - Circunferência de Cintura

CNA - Comprimento NasoAnal

CON-EXE - Ratos de ninhada controle praticantes de natação

CON-SED - Ratos de ninhada controle sedentários

DAC - Doença Arterial Coronariana

DEXA - Absorciometria de raios X de Dupla Energia

DM2 - Diabetes Mellitus tipo 2

EF - Exercício Físico

EPOC - *Excess Postexercise Oxygen Consumption* (Consumo elevado de oxigênio pós-exercício)

GLUT - Transportador de Glicose

GTT - Teste de Tolerância à Glicose

HDL - *High density Lipoprotein* (Lipoproteína de alta densidade)

IFN- γ - Interferon gama

IL - Interleucina

IR - Receptor de Insulina

IRS - Substrato para o Receptor de Insulina

IMC - Índice de Massa Corpórea

IR - Receptor de Insulina

ITT - Teste de Tolerância à Insulina

KITT - Constante de Decaimento da Glicose

LDL - *Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de baixa densidade)

MDC - Método de Dobras Cutâneas

NO - Óxido Nítrico

NVM - Núcleo hipotalâmico Ventro Medial

PAD - Pressão Arterial Diastólica

PAS - Pressão Arterial Sistólica

PI3K - Fosfatidilinositol 3 - quinase

Ppar- γ - Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma gama

RCQ - Relação Cintura - Quadril

RED-EXE - Ratos de ninhada reduzida praticantes de natação

RED-SED - Ratos de ninhada reduzida sedentários

RNM - Ressonância Nuclear Magnética

SAL - Solução Salina

SI - Sistema Imunológico

TAB - Tecido Adiposo Branco

TAG - Triacilglicerol

TAM - Tecido Adiposo Marrom

TAS - Tecido Adiposo Subcutâneo

TAV - Tecido Adiposo Visceral

TC - Tomografia Computadorizada

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral alfa

UCP - *Uncoupling Proteins* (Proteínas Desacopladoras)

VLDL - *Very Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de muito baixa densidade)

RESUMO

A obesidade tem sido apontada como um dos maiores desafios enfrentados pela saúde pública no último século, devido a seu evidente caráter patogênico. Diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, AVC e infarto agudo do miocárdio são algumas das doenças originadas a partir desta, que já é considerada uma epidemia, devido ao grande número de pessoas que afeta. Evidências indicam que a estratégia mais eficaz para sobrepujar esta situação é a mudança de hábitos, como a adição de exercícios físicos à rotina diária e/ou modificações na dieta, de maneira que a ingesta calórica não exceda seu gasto. Em vista disso, nosso trabalho teve como objetivo investigar: 1) O efeito crônico do exercício físico em parâmetros morfológicos, bioquímicos e metabólicos de ratos que foram ou não induzidos à obesidade; 2) Avaliar o efeito do destreinamento sobre as adaptações promovidas pelo exercício ao longo do tempo. Os experimentos foram divididos em dois grupos segundo a idade dos animais: G60 - animais de 60 dias e G90 - animais de 90 dias. G60 e G90 foram subdivididos em animais controle (G60C e G90C), e animais de ninhada reduzida (G60R e G90R). Estes subgrupos foram novamente subdivididos segundo a prática de exercício ou sedentários (G60CSED, G60CEXE, G60RSED, G60REXE e G90CSED, G90CEXE, G90RSED, G90REXE). Os grupos EXE realizaram três treinos por semana, durante 6 semanas, em dias alternados, com duração de 30 minutos e carga adaptada a cada animal individualmente, sendo 5% da massa corporal. A coleta de tecidos do grupo G60 ocorreu aos 60 dias de vida, enquanto o grupo G90 passou por período de destreinamento entre 60 e 90 dias, e a coleta dos tecidos deste grupo foi realizada aos 90 dias de vida. Ao final do estudo, não foi verificada diferença significativa no conteúdo de tecido adiposo branco (TAB) entre sedentários e exercitados de G60, porém notou-se que os grupos obesos exercitados de G60 apresentaram maior sensibilidade à insulina ($p < 0,0071$) quando comparados aos obesos sedentários. Já os animais obesos exercitados de G90, mesmo após 30 dias de ausência de exercício físico, apresentaram menor conteúdo de TAB nos panículos adiposos mesentérico ($p < 0,0040$) e retroperitoneal ($p < 0,0165$) em comparação com os animais obesos sedentários. A tolerância à glicose foi semelhante entre sedentários e exercitados em G90, porém, houve forte tendência para melhor resposta dos grupos exercitados, sendo este fato atribuído a um possível efeito residual do exercício físico precoce.

Palavras-chave: obesidade; exercício; destreinamento.

ABSTRACT

Obesity has been identified as one of the greatest challenges faced by public health in the last century due to its evident pathogenicity. Diabetes mellitus type 2, hypertension, stroke and acute myocardial infarction are some of the diseases originated from this, which is already considered an epidemic, due to the large number of people it affects. Evidences indicate that the most effective strategy to overcome this situation is to change habits, such as adding physical exercises to daily routine and / or dietary modifications, so that caloric intake does not exceed the expenditure. In view of this, our work aimed to investigate: 1) The chronic effect of physical exercise on morphological, biochemical and metabolic parameters of rats that were or were not induced to obesity; 2) To evaluate the effect of the detraining (interruption of training) on the adaptations promoted by the exercise over time. The experiments were divided into two groups, according to the age of the animals: G60 - animals of 60 days and G90 - animals of 90 days. G60 and G90 were subdivided into control animals (G60C and G90C) and reduced litter animals (G60R and G90R). These subgroups were again subdivided into exercised and sedentary animals (G60CSED, G60CEXE, G60RSED, G60REXE and G90CSED, G90CEXE, G90RSED, G90REXE). The EXE groups performed three training sessions weekly, for 6 weeks, on alternate days, with a duration of 30 minutes, using a load adapted to each individual animal, corresponding to 5% of its body mass. Tissue collection from the G60 group occurred at 60 days of life, while the G90 group underwent detraining between 60 and 90 days, and the collection of tissues from this group was performed at 90 days of life. At the end of the study, there was no significant difference in the white adipose tissue (WAT) content between exercised and sedentary from G60 subjects, but it was observed that the exercised obese G60s presented higher insulin sensitivity ($p < 0.0071$) when compared to sedentary obese ones. On the other hand, exercised obese animals of G90, even after 30 days of absence of physical exercise, had lower TAB content in mesenteric ($p < 0.0040$) and retroperitoneal ($p < 0.0165$) adipose tissue compared to sedentary obese ones. Glucose tolerance was similar between exercised and sedentary G90s, but there was a strong tendency for a better response of the exercised groups, which was attributed to a possible residual effect of the early physical exercise.

Keywords: obesity; exercise; detraining.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS	11
RESUMO.....	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 ANIMAIS	25
3.2 MODELO EXPERIMENTAL	25
3.3 CONSTATAÇÃO DA OBESIDADE	26
3.4 PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO	26
3.5 DIVISÃO EXPERIMENTAL	26
3.6 AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO E CONSUMO ALIMENTAR	28
3.7 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	28
3.8 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE	28
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4 RESULTADOS.....	30
4.1 MASSA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO	30
4.1.1 MASSA CORPORAL AOS 7 DIAS.....	30
4.1.2 MASSA CORPORAL AOS 14 DIAS	32

4.1.3	MASSA CORPORAL AOS 21 DIAS	34
4.2	ÍNDICE DE LEE	35
4.3	MASSA RELATIVA DOS TECIDOS ADIPOSOS	38
4.4	MASSA CORPORAL APÓS A LACTAÇÃO	44
4.5	CONSUMO ALIMENTAR	46
4.6	TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA	47
4.7	TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE	49
5	DISCUSSÃO	52
6	CONCLUSÕES	59
7	REFERÊNCIAS	60

INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos maiores desafios para saúde pública, e possui correlação direta com as principais causas de morte no mundo. Das 56,4 milhões de mortes no ano de 2015, mais de 15 milhões foram devidas à doença arterial coronariana (DAC) e acidente vascular cerebral (AVC), ambos apresentando como elo comum a obesidade. Esta epidemia, como já é denominada, tomou tais proporções sobretudo nos últimos dois séculos, em que a industrialização trouxe maior comodidade às pessoas e levou-as a adotarem estilo de vida menos ativo. (WHO, 2016; CABALLERO, 2007).

Sobrepeso e obesidade são definidos como acúmulo excessivo de gordura corpórea, de modo a oferecer risco para a saúde (WHO, 2017). Entretanto, ainda que pareçam ter o mesmo significado, representam diferentes graus de uma mesma doença, na qual um indivíduo que apresenta Índice de massa corpórea (IMC, dado por: *massa corpórea em kg/estatura² em metros*) entre 25 e 29,9 kg/m² encontra-se com sobrepeso, e um indivíduo que apresenta IMC acima de 30kg/m² é caracterizado como obeso (WHO, 2004).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, no ano de 2014, 1,9 bilhões de pessoas acima dos 18 anos (40% das mulheres e 38% dos homens) estavam com sobrepeso, dentre as quais 600 milhões eram obesas. Atualmente, 14,9% das mulheres adultas e 10,8% dos homens adultos são obesos, e se a tendência continuar, estima-se que em 2025 os números aumentarão para 21% e 18%, respectivamente (SAKURAI et al., 2017).

Estes dados fazem sentido ao se observar que após a revolução industrial houve mudança drástica, tanto nas formas de busca pelos alimentos, quanto nos tipos de alimento ingeridos. Aqueles indivíduos que antes precisavam lançar mão de técnicas como caça, pesca e plantio para obter seu sustento, gastando assim, quantidades consideráveis de energia ao longo do dia, agora têm rotina sedentária, aliada a dieta altamente calórica. O despreparo genético e metabólico da raça humana para tal mudança fundamenta o aumento assombroso na incidência de doenças crônico-degenerativas como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), doenças coronarianas e câncer, que ocorreu após esse período (BARBALHO et al., 2015).

Tanto a obesidade quanto o sobrepeso instalam-se quando há quebra no balanço energético, e a quantidade de calorias ingeridas passa a ser superior à

demanda requerida pelas células para manter sua função e metabolismo (LÓPEZ e TENA-SEMPERE, 2017). O gasto energético dá-se por três maneiras: 1) Metabolismo basal; 2) Termogênese adaptativa; e 3) Atividade física. Metabolismo basal abrange toda a abundância de processos bioquímicos necessários para manter a vida, enquanto termogênese adaptativa envolve a energia dissipada na forma de calor em resposta a alterações ambientais, como deslocamentos entre ambientes com temperaturas diferentes, ou variações dietéticas. Já a atividade física se refere a qualquer movimento voluntário (SPIEGELMAN e FLIER, 2001). Portanto, quando um indivíduo destituído de quaisquer problemas na absorção de nutrientes passa a ingerir mais energia que o necessário para manutenção dessas 3 funções, inicia-se o processo de armazenamento de gordura pelo tecido adiposo.

A disposição anatômica do tecido adiposo ocorre em diferentes proporções e é dependente de fatores como idade, etnia, gênero, concentrações hormonais, dieta e atividade física. No entanto, independentemente da distribuição corporal, apresenta-se em dois compartimentos principais, cada qual com características metabólicas distintas: tecido adiposo subcutâneo (TAS) e tecido adiposo visceral (TAV) (SHUSTER et al., 2014). O primeiro está localizado logo abaixo da derme, envolvendo toda área corporal, e portanto, confere o dimorfismo sexual à espécie humana. Ademais, suas principais funções são o armazenamento de energia na forma de triacilgliceróis (TAG), a proteção contra choques mecânicos e o isolamento térmico (CUNHA, 2014). Já o segundo localiza-se entre os órgãos internos e é descrito como tecido metabolicamente mais ativo, devido à quantidade de moléculas que secreta, dentre as quais, citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-8, IFN- γ , visfatina, resistina) e anti-inflamatórias (IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, adiponectina) (PRADO et al., 2009). Entre essas adipocinas, como são conhecidas, as pró-inflamatórias particularmente tem sido apontadas como principal gatilho para o desenvolvimento de doenças metabólicas como diabetes tipo 2, já que sua liberação induz a um estado de inflamação crônica de baixo grau que parece interferir negativamente na sensibilidade à insulina (SPOTO, 2014).

Em contraste com o TAS e TAV, que são formados por tecido adiposo branco (TAB), há uma terceira classe, nomeada tecido adiposo marrom (TAM). Este tem como função gerar calor pelo processo conhecido como desacoplamento mitocondrial, mediado por proteínas da classe UCP (*uncoupling proteins*). A ocorrência deste processo eleva o gasto energético, ou seja, numa comparação

entre TAB e TAM, verifica-se dois tecidos com funções completamente opostas. Enquanto aquele armazena energia, este dissipa-a (COHEN e SPIEGELMAN, 2015). Existe ainda uma categoria de tecido adiposo com algumas características comuns ao TAM, mas que por não ser originária do mesmo precursor embrionário, é tratada como célula distinta. É conhecido como tecido adiposo bege ou tecido adiposo marrom induzível. Suas células se desenvolvem entre células do TAB. Além disso, enquanto o TAM expressa alta quantidade de proteínas UCP1 na ausência de estímulos, este outro parece expressar as mesmas proteínas apenas em resposta a ativadores como agonistas do receptor β -adrenérgico e receptor γ (PPAR- γ) (HARMS e SEALE, 2013).

A despeito de sua importância como órgão endócrino, o tecido adiposo visceral quando aumentado pode trazer sérios riscos à saúde. No entanto, é difícil estabelecer o ponto exato em que o órgão metabolicamente ativo torna-se um agente nocivo ao organismo. Com a finalidade de clarificar estes acontecimentos, foram criados diversos métodos para mensuração da gordura centrípeta, comumente divididos em duas categorias: 1) Preditores antropométricos; 2) Métodos de imagem. O primeiro compreende o método das dobras cutâneas (MDC), a Circunferência de cintura (CC), a Relação cintura/quadril (RCQ) e o IMC. O segundo, a Tomografia computadorizada (TC), a Ressonância nuclear magnética (RNM) e a absorciometria de raios X de dupla energia (DEXA). Os métodos de imagem, quando comparados aos antropométricos apresentam acurácia significativamente maior, porém, em razão de seu alto custo e difícil acesso, acabam por ser menos utilizados para estes fins. Dessa forma, a avaliação mais adequada para predição de gordura corporal passa a ser a antropometria, por seu baixo custo e fácil manuseio dos instrumentos utilizados (SILVA et al., 2002).

No que tange ao tratamento da obesidade, são adotadas várias modalidades de intervenção, que podem incluir alterações na ingestão calórica, elevação no nível de atividade física, procedimentos cirúrgicos e estratégias farmacológicas. Contudo, a que tem se mostrado mais efetiva, não apenas para o tratamento mas também como forma de prevenção, inclui simplesmente modificações de conduta, em relação ao volume de atividade física e comportamento alimentar (SILVA et al., 2002).

Partindo-se da premissa que a atividade física (AF), quando planejada e organizada, feita de forma estruturada e sob orientação profissional, obtém o título de exercício físico (EF), depreende-se que um indivíduo ao optar por mudar seus

hábitos, elevando seu nível de atividade conscientemente, ele passa a ser agora um praticante de exercícios físicos. Segundo Ciolac e Guimarães (2004), os benefícios da prática regular de EF podem ser verificados em diversos parâmetros bioquímicos e fisiológicos, que quando alterados podem constituir fatores de risco, como por exemplo: redução da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) em indivíduos hipertensos bem como em indivíduos normotensos, devido à vasodilatação periférica induzida pela ação do óxido nítrico (NO) liberado no endotélio das arteríolas; melhora no perfil lipídico, notadamente elevando as concentrações de HDL colesterol (*high density lipoprotein*) e reduzindo as concentrações de LDL e VLDL colesterol (*low density lipoprotein* e *very low density lipoprotein*, respectivamente); melhora na sensibilidade à insulina e perfil glicêmico, mediada pelo aumento na translocação de transportadores GLUT-4 para a membrana muscular independentemente da ação da insulina (BARRILE et al., 2015); não menos importantes são as adaptações observadas no sistema imunológico (SI). Quando realizado em intensidade moderada, o EF leva ao aumento dos leucócitos circulantes, nos períodos intra e pós-exercício (TOSSIGEGOMES et al., 2014).

Com relação à homeostase glicêmica, ainda que tenham sido documentados efeitos positivos do exercício a longo prazo, sabe-se que o efeito agudo sobre a sensibilidade à insulina proveniente do exercício é o principal, e não permanece por mais que 72 horas, justificando assim a importância da periodicidade desta prática, sobretudo em indivíduos que apresentam resistência à insulina (SIGAL et al., 2004).

Este trabalho envolveu etapas distintas, sendo que, em uma delas, determinados grupos experimentais realizaram exercício físico, e em outra, passaram por período de ausência de exercício. O termo "destreinamento" sugere que houve alguma intervenção que tornou os animais destreinados, quando, na verdade, o único acontecimento foi a interrupção das sessões de exercício/treinamento. Ainda assim, para fins de compreensão, utilizaremos a palavra "destreinamento" para designar a segunda etapa do trabalho, em que os animais passaram a não mais realizar exercício.

De acordo com Michelin et al., (2008), ao indivíduo cessar a prática de um programa de 9 meses de treinamento direcionado à melhora na aptidão física, 1 mês apenas, já é suficiente para fazer com que os níveis de flexibilidade, aumentados em 8% pela prática, retornem a valores basais. Ainda nesta linha, adaptações

cardiovasculares podem ser perdidas em ainda menos tempo. Segundo Evangelista e Brum (1999), após 2 a 4 semanas de destreinamento, a frequência cardíaca em exercício submáximo e máximo passa a ser mais alta, em função de alterações no débito cardíaco. Tais mudanças refletem, na prática, o poderoso princípio da reversibilidade (MCARDLE et al., 2003) segundo o qual, independentemente do tempo de prática de determinada modalidade, as adaptações adquiridas serão perdidas, quando houver ausência de estímulo.

O aumento na incidência de doenças metabólicas e coronarianas relacionadas à obesidade (CABALLERO, 2007) ganhou a atenção de pesquisadores por todo o mundo, fazendo-se necessária a criação de modelos experimentais que permitissem maior entendimento das doenças em nível celular. Devido às limitações éticas, os experimentos com seres humanos são muitas vezes inviáveis, uma vez que a integridade física e psicológica dos estudados devem ser preservadas. Assim sendo, correntemente são empregados em pesquisa modelos animais cujo objetivo consiste em simular determinada condição ou doença, testar as intervenções relevantes e extrapolar os resultados para os seres humanos. Particularmente, os pequenos roedores são os mais utilizados, justamente por seu fácil manuseio, alta velocidade de metabolismo e rápida reprodução (FAGUNDES e TAHA, 2004).

Dentre os modelos experimentais de obesidade, destacam-se: modelos genéticos (monogênicos e poligênicos), em que um ou mais genes, respectivamente, estão ausentes ou inativos no animal; químicos ou cirúrgicos, nos quais lesa-se regiões específicas do hipotálamo, induzindo os animais à hiperfagia; modelos dietéticos, em que os animais não são lesados ou manipulados em nível celular, mas apenas sua alimentação é modificada, como nos modelos de dieta cafeteria e *high-fat*. Ainda entre os dietéticos, encontra-se o modelo de obesidade por redução de ninhada, no qual o ajuste no tamanho das ninhadas modifica a competição entre os filhotes, pelo leite ofertado pela mãe. Dessa forma, os animais de ninhada reduzida ingerem quantias mais elevadas quando comparados a animais de ninhada normal. O maior aporte energético precoce do primeiro grupo é refletido na fase adulta, em que os animais de ninhada reduzida tornam-se obesos e resistentes à insulina (LUTZ e WOODS, 2013).

O fenômeno que justifica as alterações observadas em animais submetidos à redução de ninhada é conhecido como *Imprinting metabólico*, nada mais que uma espécie de programação a longo prazo do organismo, provocada por modificações

hormonais e/ou nutricionais e que levam a adaptações tanto morfológicas quanto funcionais e metabólicas, tornando-os assim mais susceptíveis a patologias na fase adulta (XAVIER et al., 2015).

Sabe-se que estas patologias não advém apenas do aumento na adiposidade, mas também do quadro inflamatório que se instala juntamente com esse aumento (FERRANTE, 2007). O TAB é responsável pela produção de grande quantidade de citocinas de caráter pró e anti-inflamatório, chamadas adipocinas. Concomitantemente à hipertrofia desse tecido, ocorre aumento na produção e secreção das citocinas pró-inflamatórias, que estimulam por quimiotaxia a migração de células do sistema imunológico para a região (LEITE et al., 2009).

Naturalmente, o TAB é um sítio imunológico, abrigando linfócitos T e B, células dendríticas, mastócitos, eosinófilos e macrófagos, sendo que o último é também o mais abundante (BLOOR e SYMONDS, 2014). Esta categoria de células possui heterogeneidade fenotípica e funcional, de modo que diferentes fenótipos designam diferentes papéis metabólicos. Os macrófagos são classificados em duas grandes classes baseadas em seu perfil secretório e marcadores de superfície: M1 ou “clássico” e M2 ou “alternativo”. Os macrófagos do TAB podem prontamente modificar o estado funcional do ambiente tecidual. Especialmente sob condições de densidade de nutrientes, macrófagos inflamatórios infiltrados no TAB e de acordo com as citocinas inflamatórias que eles secretarem, podem afetar negativamente a resistência à insulina. Os macrófagos M1 do TAB desempenham papel central na defesa do hospedeiro contra infecções virais e bacterianas, enquanto os M2 estão associados com reações anti-inflamatórias e desempenham papel no remodelamento tecidual, fibrose e progressão tumoral (NATOLI e MONTICELLI, 2014). A maioria dos macrófagos do TAB em obesos é do fenótipo clássico M1, e aqueles presentes nos indivíduos magros tendem a ser do fenótipo M2 (FEUERER et al. 2009).

Uma vez que não há na literatura estudos envolvendo simultaneamente modelos de obesidade, exercício físico e períodos de destreinamento, e que a redução de ninhada é o modelo experimental que mais se assemelha a situações reais, por não haver interferência farmacológica ou introdução de métodos invasivos para o estabelecimento de obesidade, nosso trabalho vem enriquecer o acervo de informações a este respeito, elucidando parte dos fenômenos metabólicos ocorridos em situações de exercício precoce seguido de posterior destreinamento.

OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito do exercício físico precoce sobre parâmetros bioquímicos e morfológicos em ratos submetidos a programação metabólica por redução de ninhada e investigar o efeito do destreinamento sobre as adaptações adquiridas ao longo do período de exercício.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Induzir obesidade por programação metabólica.
- b) Realizar protocolo de exercício físico.
- c) Avaliar o ganho de massa corporal obtido pelos grupos obesos e não obesos, exercitados e não exercitados.
- d) Avaliar o consumo alimentar de todos os grupos.
- f) Efetuar teste de tolerância à glicose e à insulina em todos os grupos.

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos machos e fêmeas da linhagem Wistar (espécie *Rattus norvegicus*), obtidos do biotério do setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Todos os procedimentos foram realizados após aprovação do Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da instituição, sob o certificado nº 968/2015. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h, temperatura $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e com oferta de água e ração para roedores (NuviLab-CR1® peletizada) *ad libitum*.

3.2 MODELO EXPERIMENTAL

Na etapa de acasalamento foram utilizados machos e fêmeas virgens, acomodados na proporção de 3 fêmeas para 1 macho. Tão logo fosse verificada a prenhez (por palpação abdominal), as fêmeas eram realocadas em gaiolas individuais, onde eram mantidas até que sua prole nascesse e completasse 21 dias de vida. Todas as ninhadas foram mantidas com 10 filhotes até o terceiro dia após o nascimento, para que as mães se adaptassem a produzir leite para esta quantidade de filhotes (PLAGEMANN et al., 1999), e ao terceiro dia, as ninhadas que seriam induzidas à obesidade por supernutrição foram reduzidas de 10 para 3 filhotes, enquanto as ninhadas normais permaneceram com 10 filhotes até que ocorresse o desmame, aos 21 dias. Nos casos em que o número de machos não era suficiente para completar 10 filhotes, eram utilizadas fêmeas, de modo que, a partir do 21º dia, os experimentos contaram apenas com ratos machos. A massa corporal dos filhotes foi mensurada 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), para acompanhar seu crescimento. A mensuração foi realizada sempre nos mesmos horários, para evitar quaisquer interferências relativas a mudanças de comportamento dos animais ao longo do dia. No 21º dia de vida, os filhotes foram desmamados e ajustados em gaiolas com 3 ou 4 animais, cada. Neste mesmo dia, as ninhadas normais foram subdivididas aleatoriamente em grupo controle - sedentário (CON-SED) e controle - exercitado (CON-EXE), enquanto as ninhadas

reduzidas foram subdivididas em grupo reduzido - sedentário (RED-SED) e reduzido - exercitado (RED-EXE).

3.3 CONSTATAÇÃO DA OBESIDADE

A verificação da obesidade foi feita mediante o Índice de Lee, análogo do IMC em humanos, dado por $\sqrt[3]{\text{massa corporal}} / \text{CNA}$, em que CNA = Comprimento NasoAnal (BERNARDIS e PATTERSON, 1968) e pela massa relativa dos depósitos de gordura mesentérica, retroperitoneal, perigonadal, dados em g/100g de peso corporal.

3.4 PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO

A partir do desmame, ao 21º dia de vida, os grupos CON-EXE e RED-EXE passaram a realizar o protocolo descrito por NERY et al., (2011), adaptado. A primeira semana foi destinada à adaptação dos animais ao meio líquido. Na segunda-feira, todos permaneceram na água por 15 minutos, apenas com sua própria massa corpórea; na quarta-feira, o tempo foi elevado para 30 minutos; na sexta-feira, os ratos foram mantidos na água por 30 minutos, e na base de sua cauda, foi fixada uma carga correspondente a 2% de sua massa corporal. Na segunda semana, o treinamento foi de fato iniciado. Foram realizadas sessões de 30 minutos, 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira pela manhã), em que, fixa à cauda dos animais havia uma carga equivalente a 5% de sua massa corporal. As sessões de exercício foram realizadas durante 6 semanas.

3.5 DIVISÃO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram divididos em dois grupos segundo a idade dos animais: G60 - animais de 60 dias e G90 - animais de 90 dias. O G60 e o G90 foram subdivididos em animais controle (G60C e G90C), e animais de ninhada reduzida (G60R e G90R). Estes subgrupos foram novamente subdivididos segundo

a prática de exercício ou sedentário (G60CSED, G60CEXE, G60RSED, G60REXE e G90CSED, G90CEXE, G90RSED, G90REXE).

Os grupos foram formados como descrito acima, porém, a primeira remessa de animais foi ortotanasiada para coleta de tecidos aos 60 dias de vida (as coletas para este grupo foram realizadas 72 horas após a última sessão de exercício), enquanto a segunda remessa foi ortotanasiada aos 90 dias de vida, sendo que nesta, os grupos RED-EXE e CON-EXE permaneceram entre os 60 e os 90 dias sem a prática de exercício físico, tornando-se desta forma, sedentários. (Ver na figura 1 o modelo experimental executado).

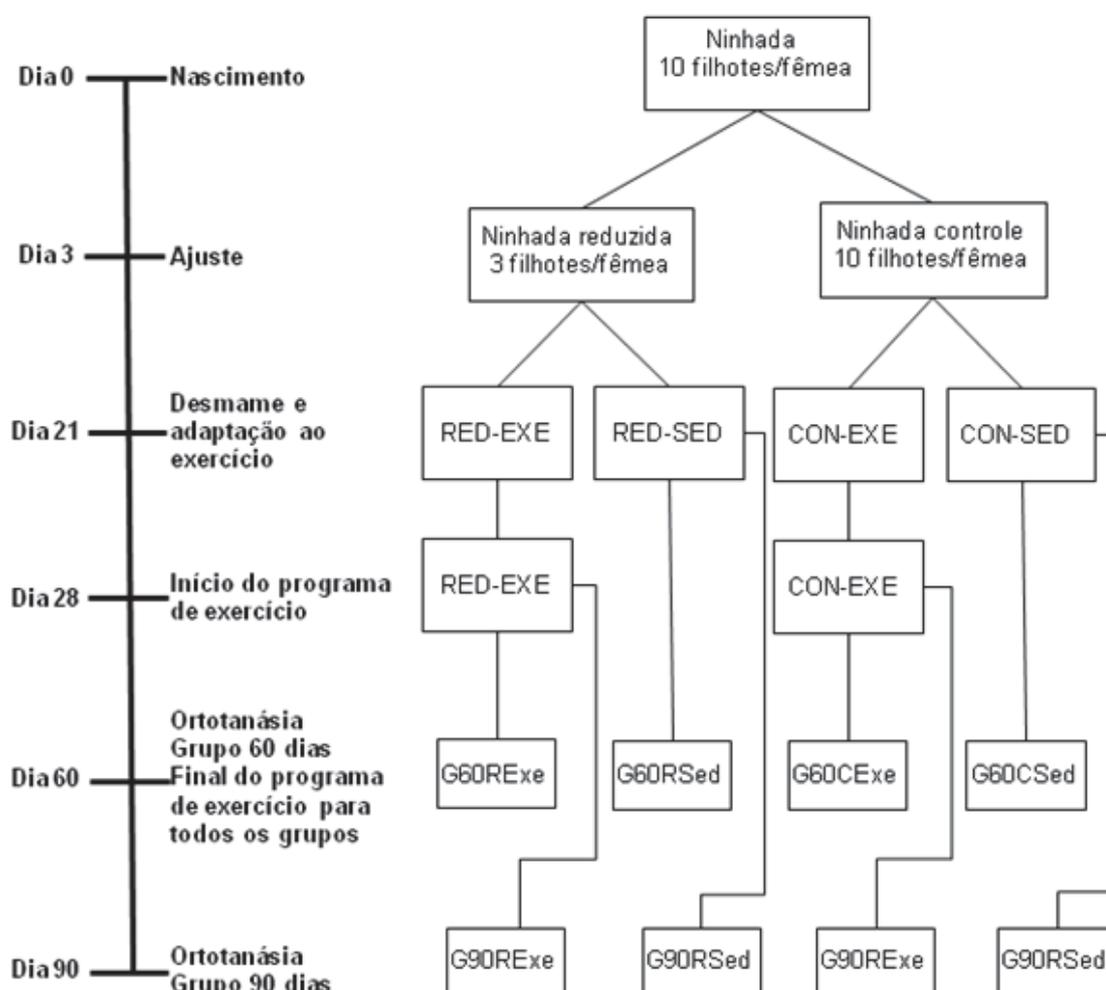


FIGURA 1. Delineamento experimental.

3.6 AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO E CONSUMO ALIMENTAR

Para avaliação do crescimento, a massa das ninhadas foi mensurada aos 7, 14 e 21 dias. A partir do 21º dia, a massa de cada rato foi medida individualmente três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira pela manhã) até o dia da ortotanásia. Nestes mesmos dias também foi mensurada a massa de ração excedente à que foi ofertada no dia anterior (esta última com valor conhecido), para estimar o consumo alimentar médio em cada gaiola.

3.7 TESTE DE TOLERÂNCIA A INSULINA

A 4 dias da ortotanásia, os ratos foram colocados em jejum de 12 horas, com acesso livre apenas a água. No tempo "zero", foram coletados 50µL de sangue via caudal para mensuração da glicemia basal. Logo após, foi administrada via intraperitoneal insulina (Humulin) na concentração 1U/1000g de massa corporal. Nos tempos 5, 10, 15, 20 e 25 minutos, a glicemia foi mensurada por meio de glicosímetro One Touch® Ultra (Lifescan). A taxa de decaimento da glicose (Kitt) foi calculada pelo coeficiente angular (slope) da reta obtida pela regressão linear do logaritmo natural da concentração de glicose sanguínea *versus* tempo, e expressa em porcentagem por minuto.

3.8 TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE

Dois dias antes da ortotanásia, os ratos foram colocados em jejum de 12 horas, com acesso livre apenas a água. No tempo "zero", foram coletados 50µL de sangue via caudal para mensuração da glicemia basal. Logo após a confirmação do resultado, foi administrada via intraperitoneal uma carga de glicose correspondente à concentração 2g/1000g de massa corporal, solubilizada a 50% em solução salina a 0,9% (50g de glicose para 100 mL de salina). Nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, foi mensurada a glicemia utilizando-se um glicosímetro One Touch® Ultra (Lifescan). A taxa de metabolização de glicose foi avaliada pelo cálculo das áreas sob as curvas, expressas em mg/dL.min.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM), submetidos à ANOVA de duas vias, tendo como fatores o exercício e a obesidade. $P < 0,05$ foi utilizado para demonstrar significância estatística. Tanto as análises estatísticas quanto os gráficos foram produzidos por intermédio do software GraphPad Prism 6.0.

RESULTADOS

Os dados estão apresentados respeitando-se a sequência temporal dos experimentos idealizados, e de maneira a facilitar a comparação entre os resultados obtidos com os animais de 60 dias e os de 90 dias, conforme divisão experimental apresentada no item 3.5.

4.1 MASSA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO

Durante o período lactacional, compreendido entre 0 e 21 dias de vida, a massa corporal dos animais foi mensurada em três momentos, sendo: no 7º, 14º e 21º dia.

4.1.1 MASSA CORPORAL AOS 7 DIAS

Conforme ilustrado nas figuras 2 e 3, houve diferença significativa entre as massas dos animais de ninhada controle e ninhada reduzida aos 7 dias de vida, tanto no grupo experimental G60 quanto no grupo G90, respectivamente.

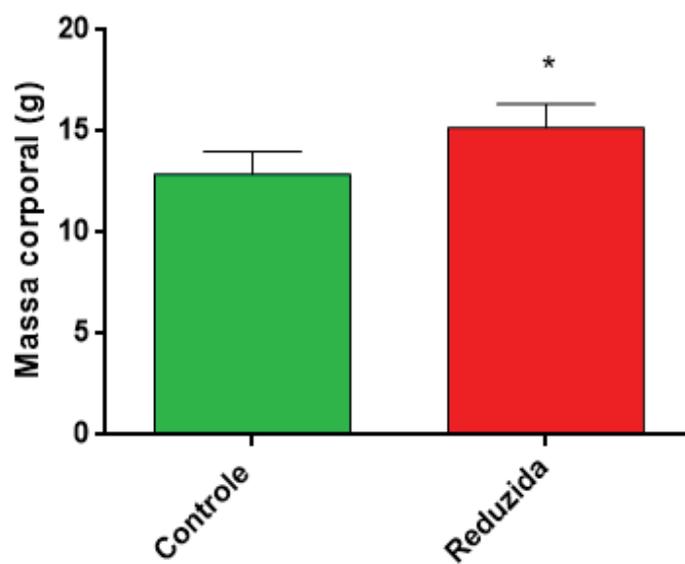


FIGURA 2. Massa corporal dos animais do grupo experimental G60, ninhada controle e ninhada reduzida, aos 7 dias de vida. n = 9 a 13 ratos por ninhada. * $p < 0,0001$ vs controle.

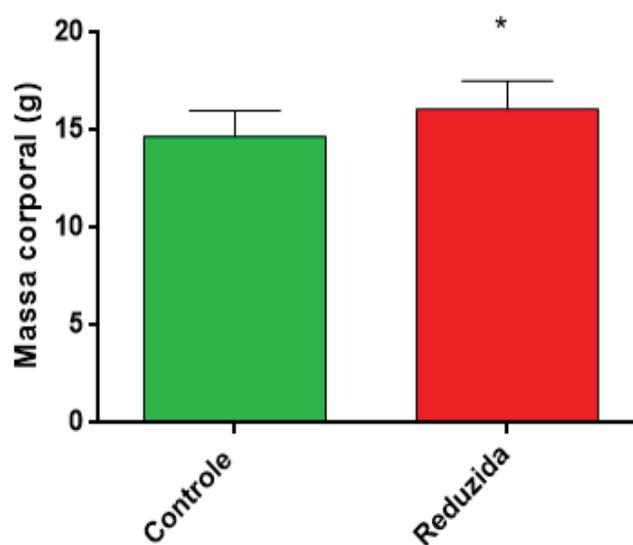


FIGURA 3. Massa corporal dos animais do grupo experimental G90, ninhada controle e ninhada reduzida, aos 7 dias de vida. n = 9 a 13 ratos por ninhada. * $p < 0,0008$ vs controle.

4.1.2 MASSA CORPORAL AOS 14 DIAS

Em ambos os grupos experimentais (G60 - figura 4 e G90 - figura 5), a massa corporal da ninhada reduzida ao 14^o dia de vida foi maior que a dos ratos do grupo controle (* $p < 0,0001$).

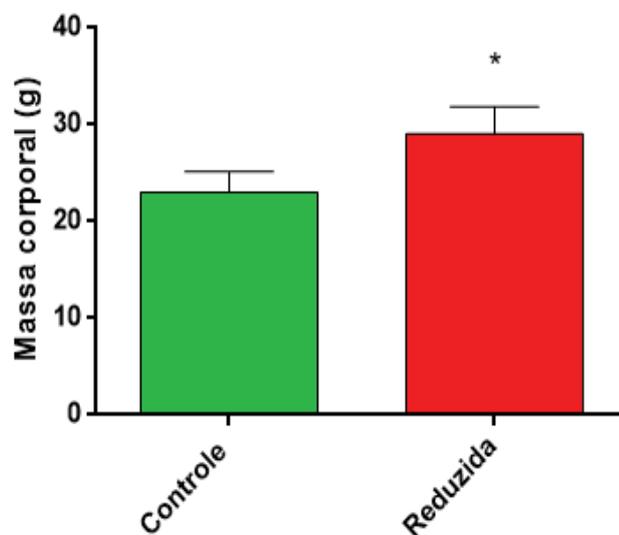


FIGURA 4. Massa corporal dos animais pertencentes ao grupo experimental G60, ao 14º dia de vida. n = 9 a 13 ratos por ninhada. *p<0,0001 vs controle.

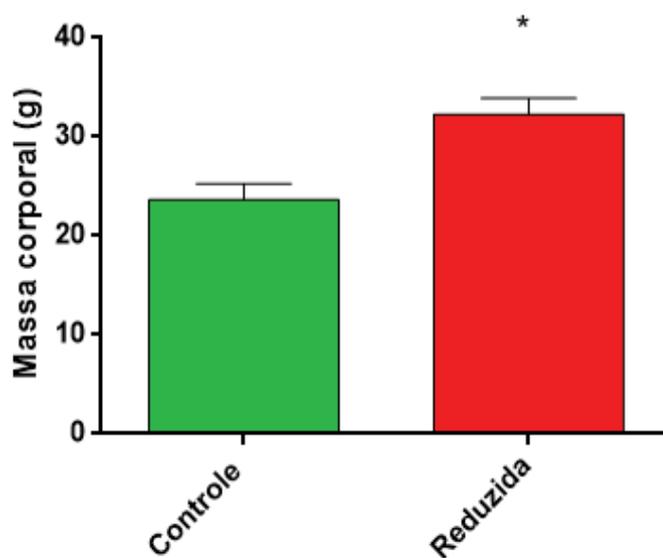


FIGURA 5. Massa corporal dos animais do grupo experimental G90, ao 14º dia de vida. n = 9 a 13 ratos por ninhada. *p<0,0001 vs controle.

4.1.3 MASSA CORPORAL AOS 21 DIAS

Ao final do desmame, a diferença entre as massas das ninhadas reduzidas e controles se manteve significativa, tanto no grupo experimental G60 quanto no grupo G90, como demonstrado nas figuras 6 e 7, respectivamente.

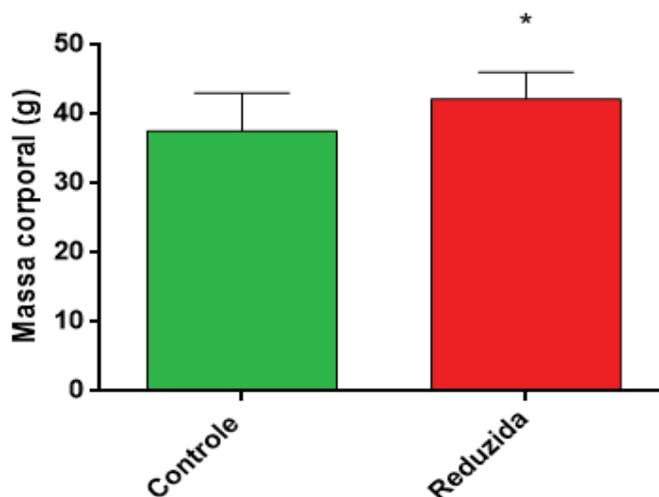


FIGURA 6. Massa dos animais do grupo experimental G60 aos 21 dias de vida, ninhadas controle e ninhadas reduzidas. n = 9 a 13 ratos por grupo. * $p < 0,045$ vs controle.

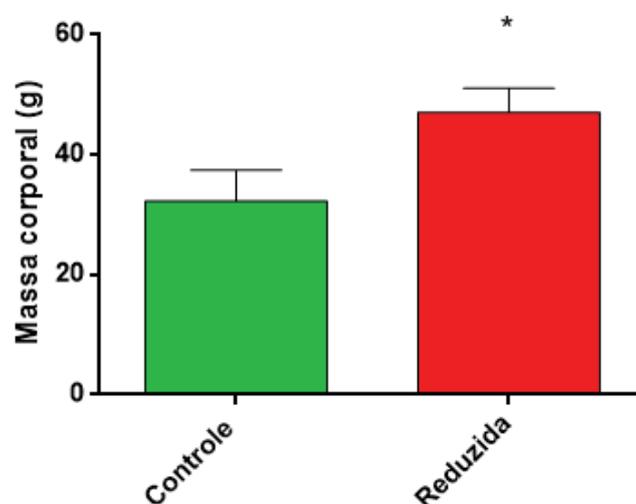


FIGURA 7. Massa corporal dos animais pertencentes ao grupo experimental G90 aos 21 dias de vida, n = 9 a 13 ratos por grupo. *p<0,0001 vs controle.

4.2 ÍNDICE DE LEE (IL)

Ao 21º dia de vida, foi medido o comprimento nasoanal (CNA) dos ratos para o cálculo do índice de Lee ($\sqrt[3]{massacorporal} / CNA$). Foi verificada diferença estatística das ninhadas reduzidas comparadas às ninhadas controle, nos tempos 60 e 90 dias (figuras 8 e 9, respectivamente).

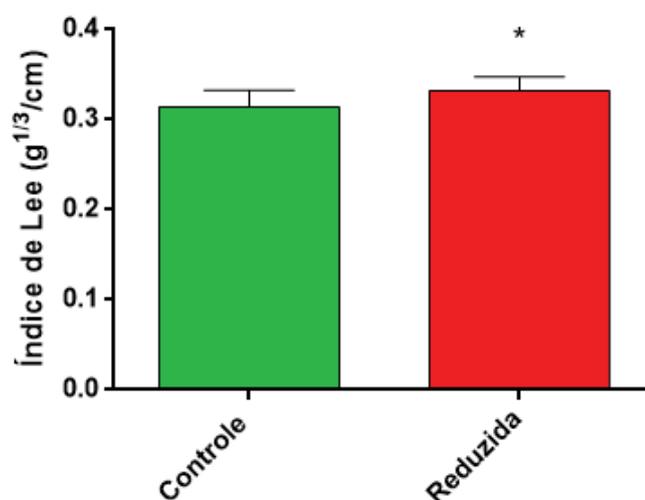


FIGURA 8. Índice de Lee das ninhadas reduzidas x ninhadas controle do grupo experimental G60 aos 21 dias de vida, n = 9 a 13 ratos por grupo. *p<0,0034 vs controle.

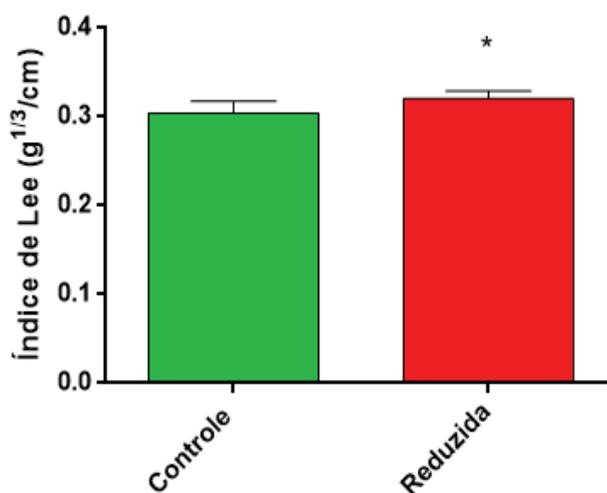


FIGURA 9. Índice de Lee das ninhadas reduzidas e ninhadas controle do grupo experimental G90 aos 21 dias de vida, n = 9 a 13 ratos por grupo. *p<0,0001 vs controle.

O IL foi mensurado aos 60 dias (figura 10), nos animais dos grupos obesos sedentários e exercitados (RED-SED e RED-EXE) e respectivos controles (CON-SED e CON-EXE). Não houve diferença significativa no IL entre os grupos (* $p > 0,05$).

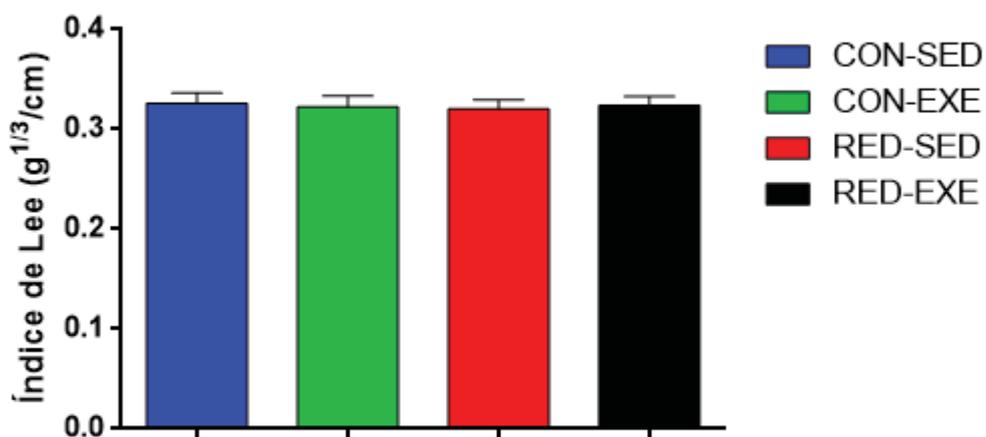


FIGURA 10. Índice de Lee aos 60 dias, dos animais pertencentes ao grupo experimental G60, sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

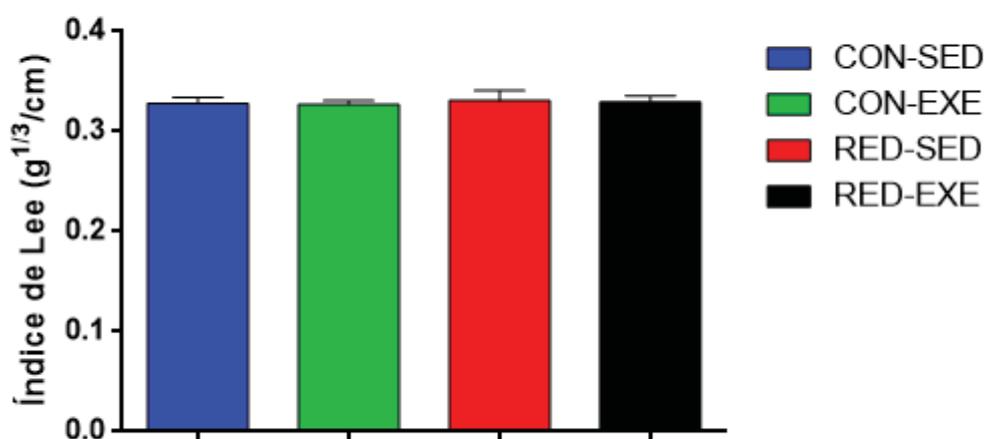


FIGURA 11. Índice de Lee aos 90 dias, dos animais do grupo experimental G90, sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

4.3 MASSA RELATIVA DOS TECIDOS ADIPOSOS

Após a ortotanásia, foram coletados e mensuradas as massas dos seguintes depósitos de gordura: mesentérico, retroperitoneal, perigonadal e tecido adiposo marrom. Entre os animais do grupo G60, os depósitos de TAB (figuras 12, 13 e 14) não foram diferentes ($p > 0,05$), ao passo que o TAM (figura 15) se mostrou elevado ($p < 0,0001$) nos grupos exercitados. Já entre os animais do grupo G90, a massa dos três depósitos de TAB (figuras 16, 17 e 18) apresentaram diferença significativa ($p < 0,0194$, $p < 0,0029$ e $p < 0,0380$) quando comparou-se RED-SED com CON-SED. Por outro lado, o TAM (figura 19) não diferiu entre sedentários e exercitados em G90 ($p > 0,05$).

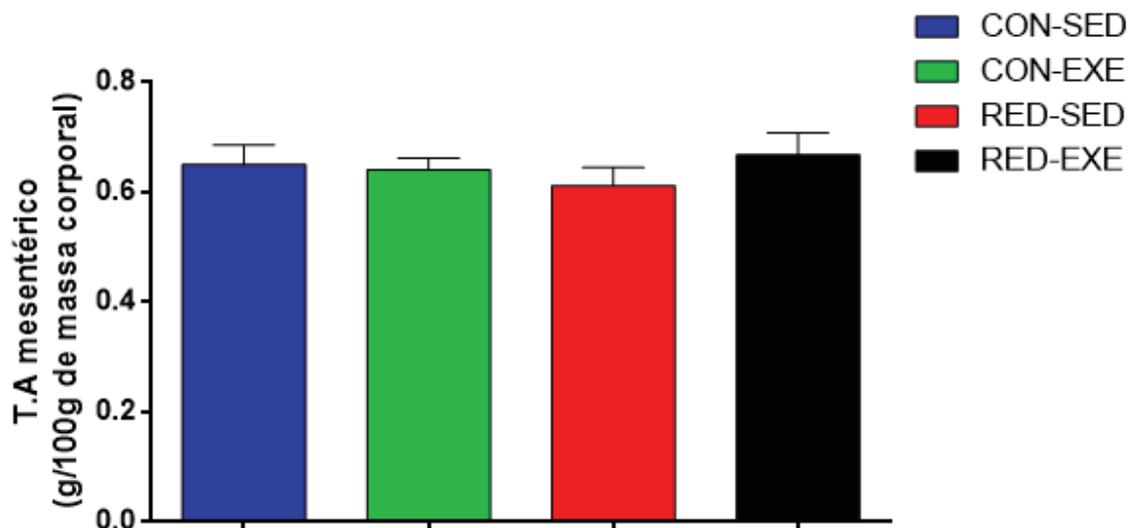


FIGURA 12. Massa relativa de tecido adiposo mesentérico dos ratos G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

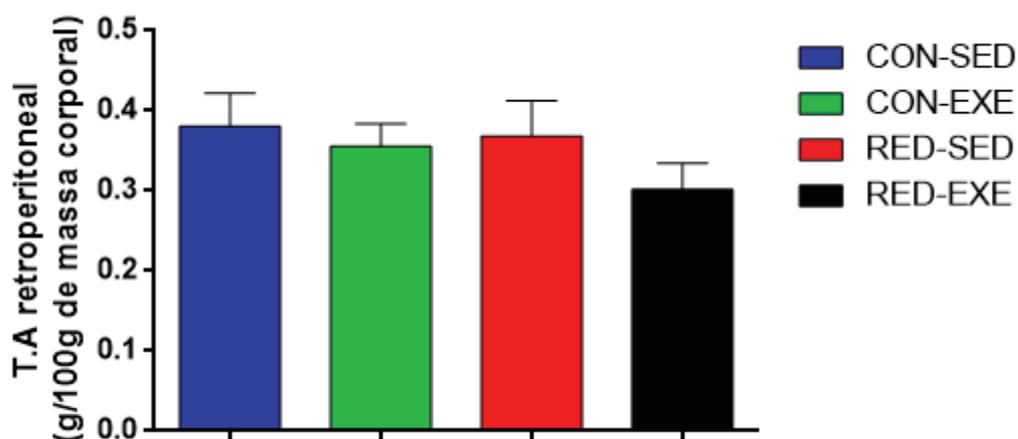


FIGURA 13. Massa relativa dos depósitos adiposos retroperitoneais, do grupo G60, dos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

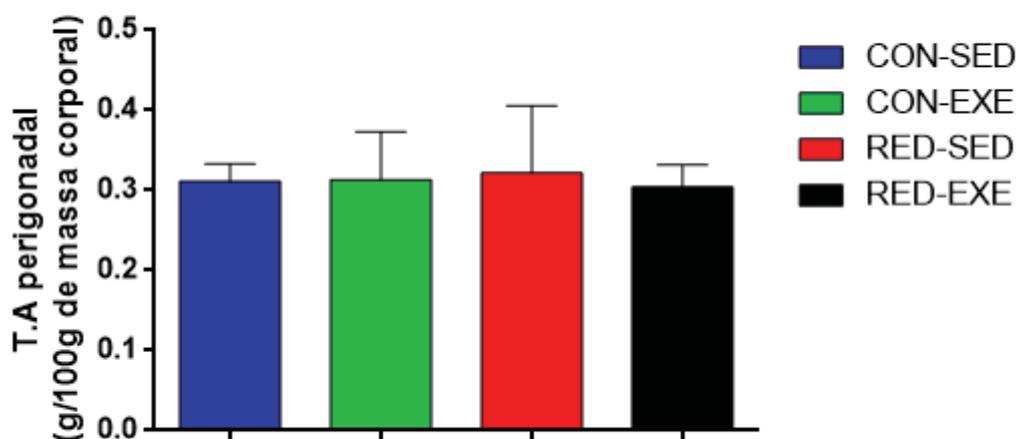


FIGURA 14. Massa dos tecidos adiposos perigonadais dos ratos do grupo G60, dos animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

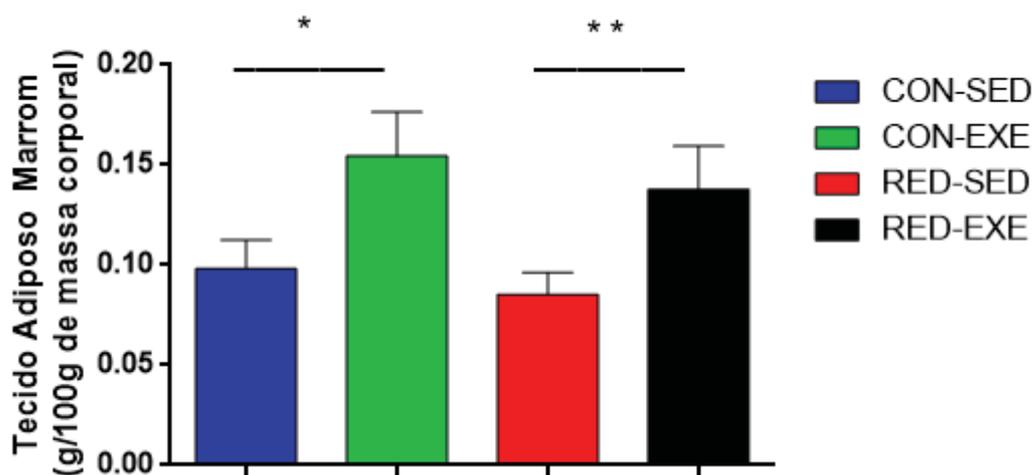


FIGURA 15. Massa do TAM dos animais do grupo G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo. * $p < 0,0001$ vs RED-SED; * * $p < 0,0001$ vs CON-SED.

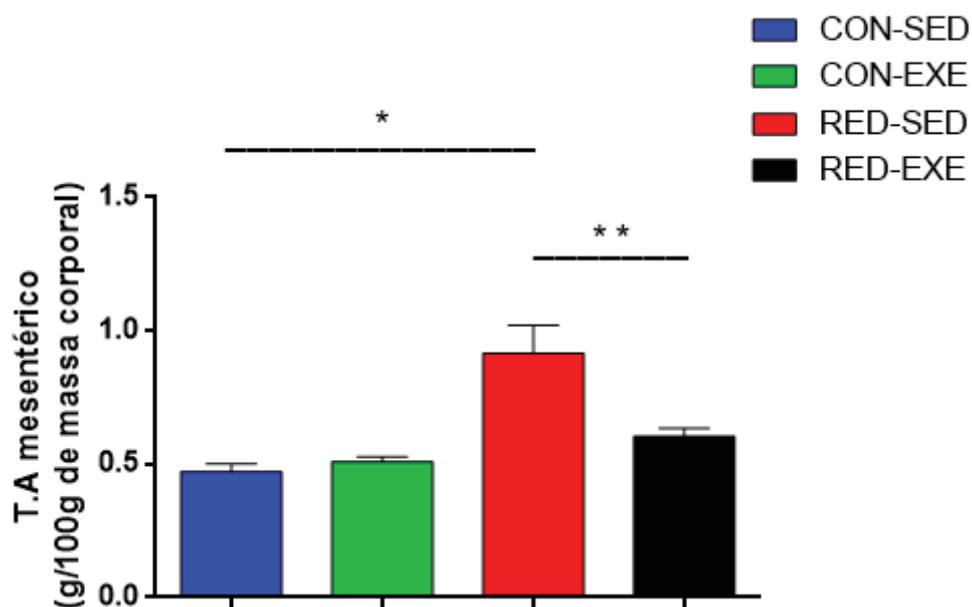


FIGURA 16. Massa dos depósitos de gordura mesentérica dos ratos pertencentes ao grupo G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). $n = 9$ a 13 ratos por grupo. $*p < 0,0001$ vs RED-SED. $n = 9$ a 13 ratos por grupo. $*p < 0,0001$ vs RED-SED; $** p < 0,0040$ vs RED-SED.

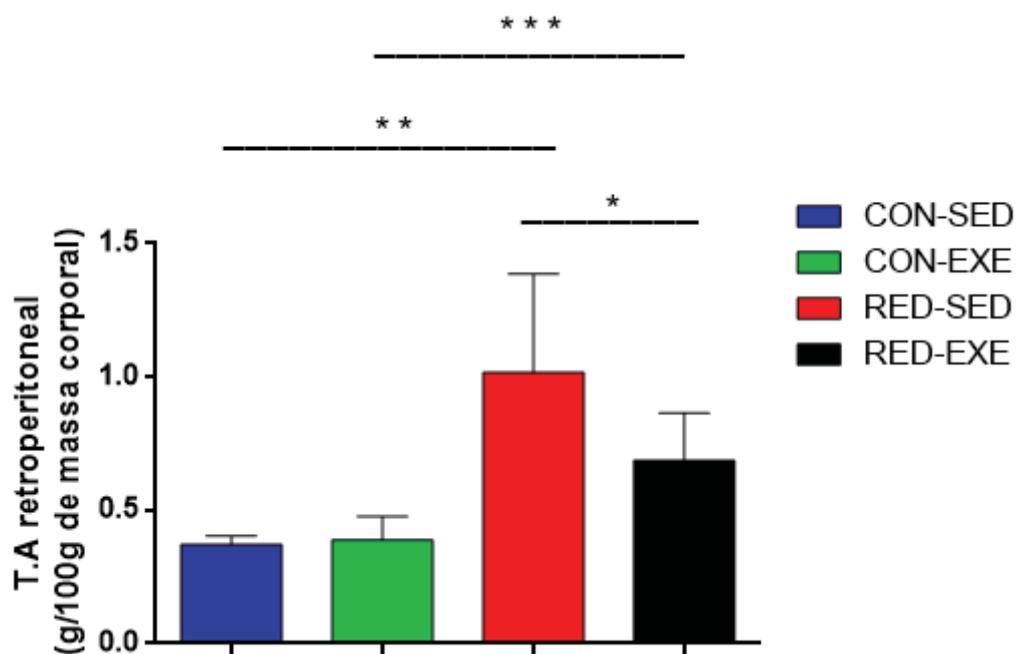


FIGURA 17. Massa dos depósitos de gordura retroperitoneal dos ratos G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo. * $p < 0,0165$ vs RED-SED; ** $p < 0,0001$ vs RED-SED; *** $p < 0,0337$ vs RED-EXE.

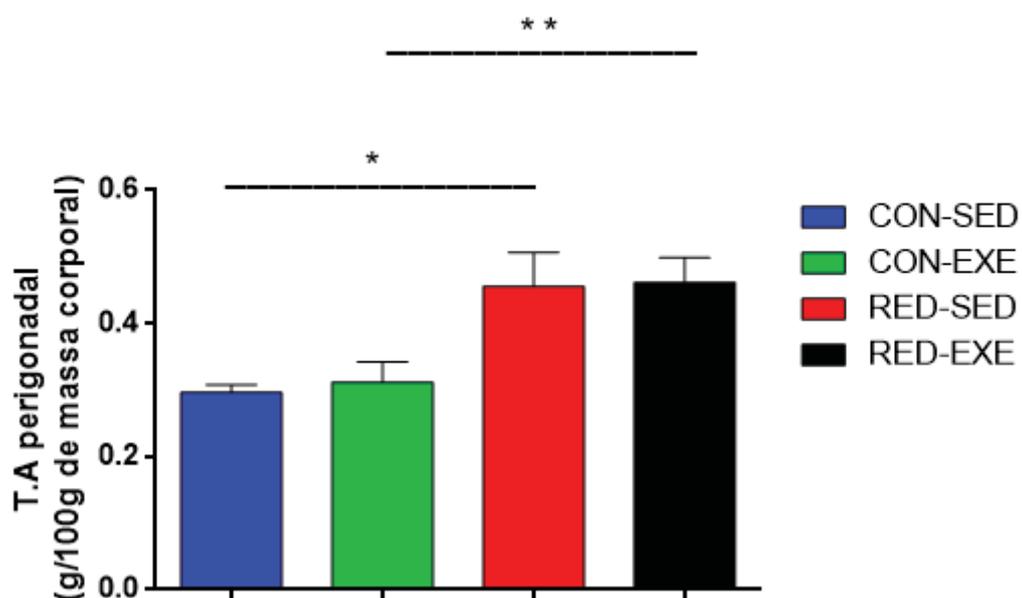


FIGURA 18. Massa dos depósitos de gordura perigonadal dos animais pertencentes ao grupo G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo. * $p < 0,0355$ vs RED-SED; ** $p < 0,0397$ vs RED-EXE.

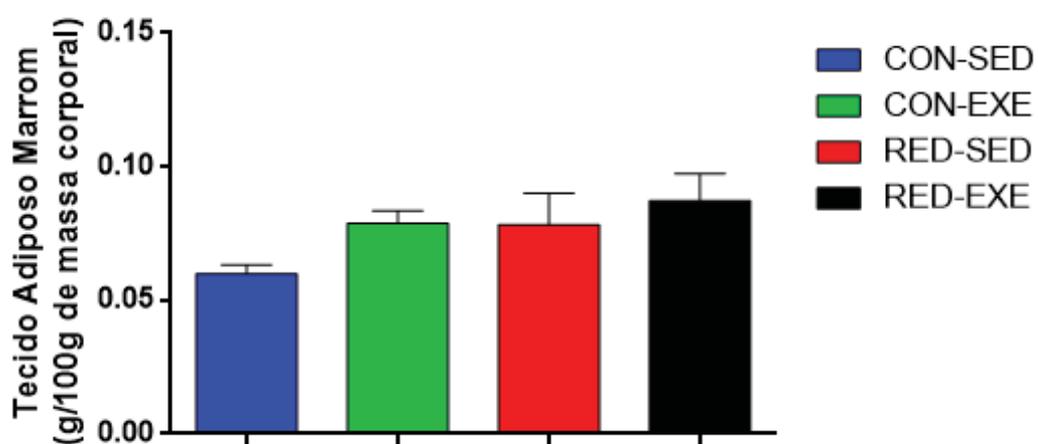


FIGURA 19. Massa do TAM dos ratos pertencentes ao grupo G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

4.4 MASSA CORPORAL APÓS A LACTAÇÃO

Após os 21 dias de vida, os grupos CONTROLE e REDUZIDO foram subdivididos em CONTROLE SEDENTÁRIO (CON-SED), CONTROLE EXERCITADO (CON-EXE), REDUZIDO SEDENTÁRIO (RED-SED) e REDUZIDO EXERCITADO (RED-EXE), e a massa corporal dos animais foi mensurada às segundas, quartas e sextas-feiras, até o dia da ortotanásia, sendo aos 60 dias para grupo experimental G60 (figura 20) e aos 90 dias (figura 21) para o grupo G90. Houve diferença significativa em todos os grupos quando comparou-se a massa inicial com a massa final, porém, entre os grupos não foi verificada diferença estatística na evolução das massas ao longo do tempo para os ratos G60. Nos ratos do grupo G90 houve ganho de massa corpórea significativamente maior no grupo obeso sedentário, quando comparado ao controle sedentário ($p < 0,05$). O grupo obeso sedentário também apresentou ganho de massa maior quando comparado ao exercitado ($p < 0,05$; RED-SED vs RED-EXE). O exercício ao qual foi submetido o grupo obeso (RED-EXE) não alterou a massa corpórea quando comparado ao obeso sedentário ($p > 0,05$).

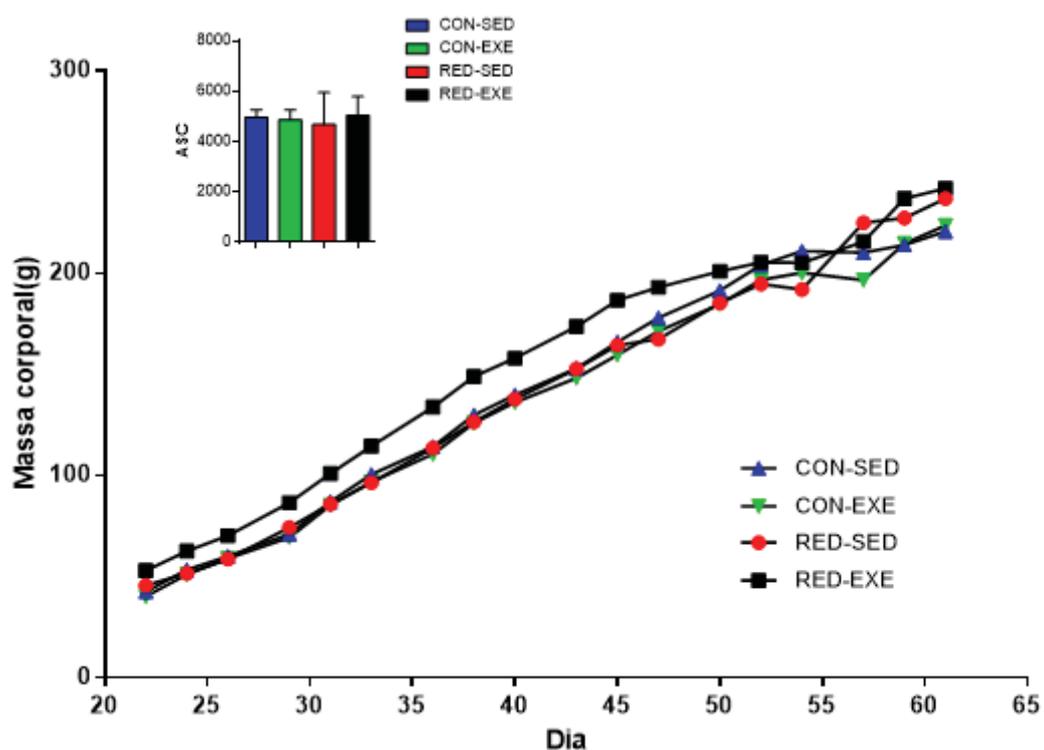


FIGURA 20. Evolução das massas corporais após a lactação, dos ratos pertencentes ao grupo experimental G60 (ortotanásia aos 60 dias), animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). O gráfico em barras representa a comparação entre os valores das áreas sob as curvas de cada grupo. n = 9 a 13 ratos por grupo.

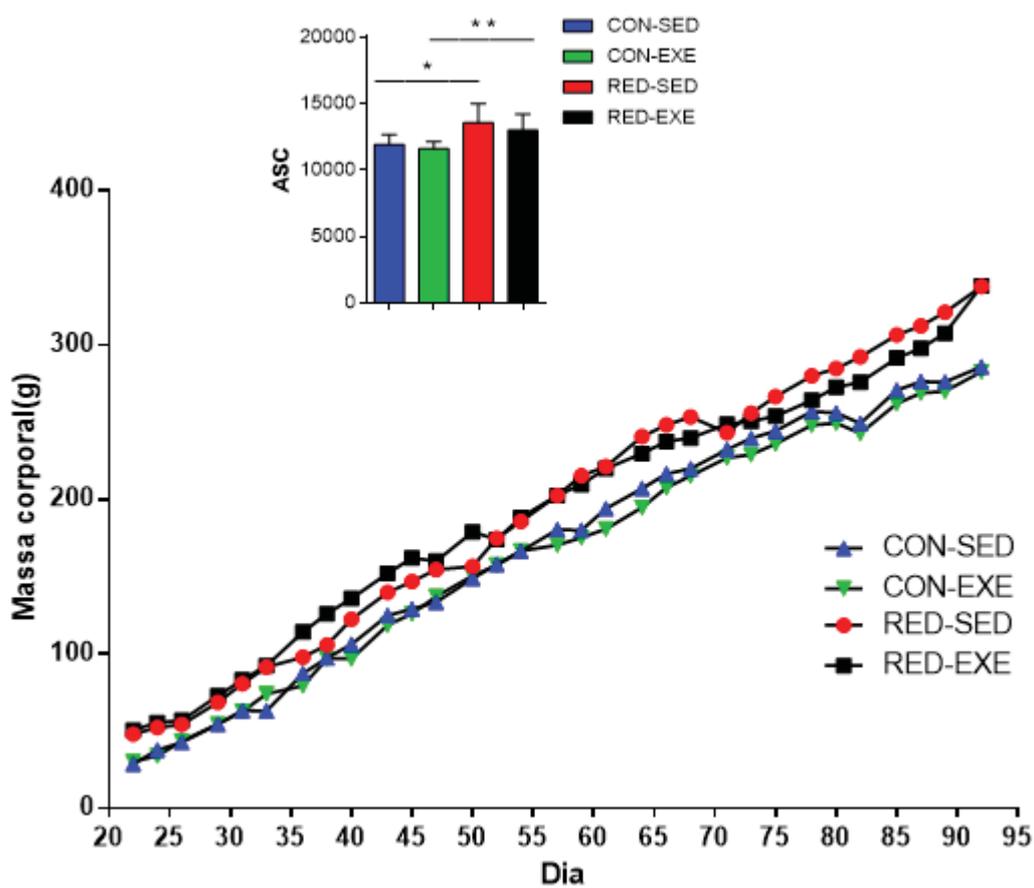


FIGURA 21. Evolução da massa corporal pós lactação em função do tempo, do grupo experimental G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). O gráfico em barras apresenta os valores das áreas sob as curvas de cada grupo, mostrando diferença significativa entre G90RSED e G90CSED, e também entre G90REXE e G90CEXE. $n = 9$ a 13 ratos por grupo. * $p < 0,0190$ vs CON-SED; * * $p < 0,0273$ vs CON-EXE.

4.5 CONSUMO ALIMENTAR

Na figura 22 está apresentado o consumo alimentar pós-desmame dos animais do grupo experimental G60. A mensuração foi realizada nas segundas, quartas e sextas-feiras pela manhã. Não houve diferença significativa entre as quantidades de ração ingeridas pelos grupos, o que ratifica a característica não hiperfágica de nosso modelo.

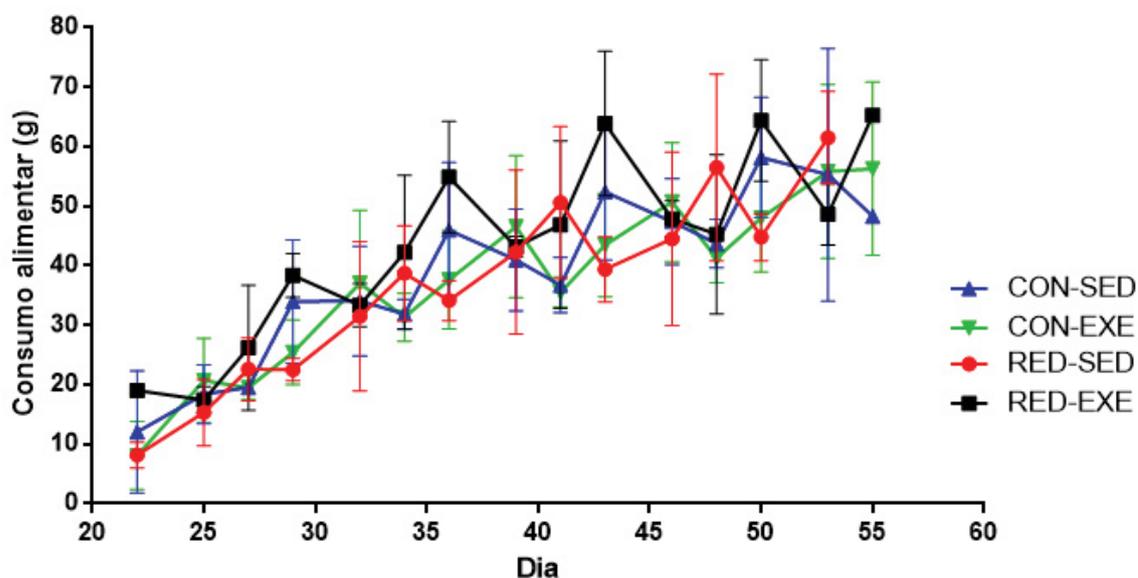


FIGURA 22. Consumo alimentar pós-desmame, dos animais do grupo experimental G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). n = 9 a 13 ratos por grupo.

4.6 TESTE DE TOLERÂNCIA A INSULINA

A sensibilidade à insulina foi avaliada mensurando-se o cálculo da constante de decaimento da glicose (Kitt), e foi verificada diferença significativa entre os grupos RED-SED e RED-EXE nos ratos G60 (figura 23) em que o grupo exercitado apresentou melhor resposta ao estímulo da insulina ($p < 0,05$). Aos 86 dias, o ITT (figura 24) não diferiu entre os grupos ($p > 0,05$).

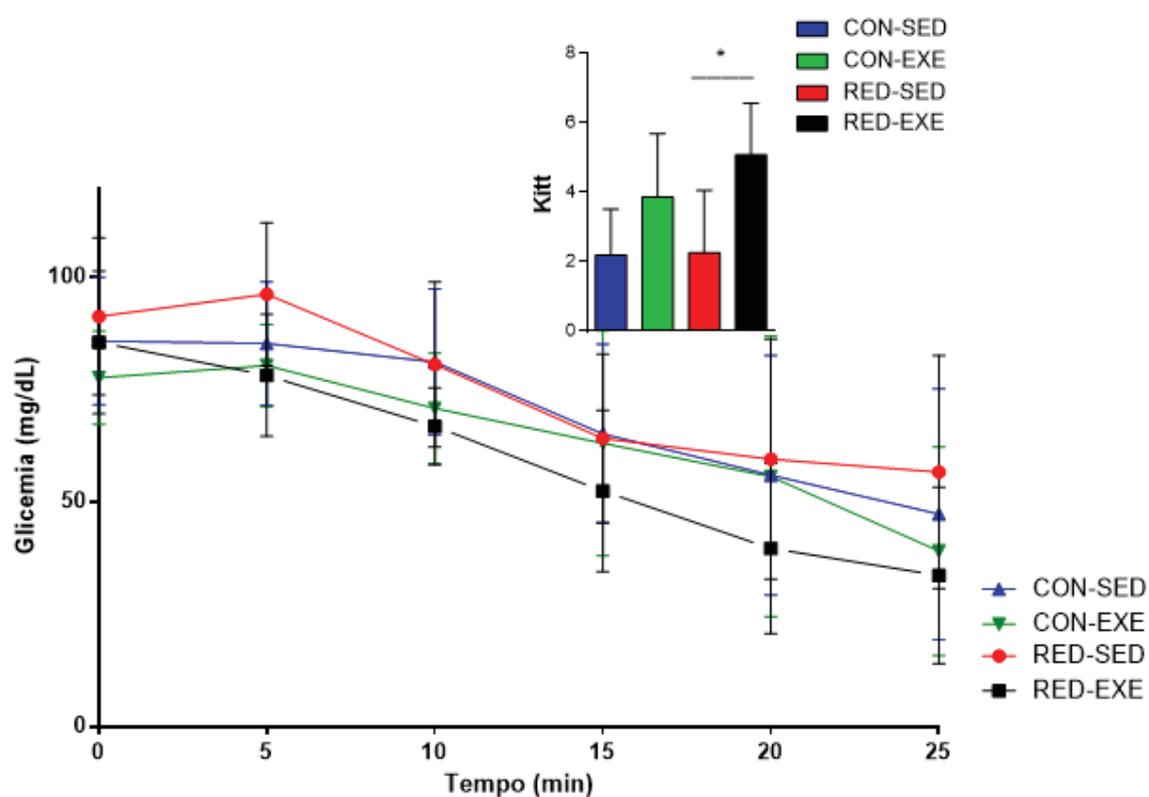


FIGURA 23. Teste de tolerância à insulina (ITT) em ratos de 56 dias de vida, pertencentes ao grupo experimental G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). O gráfico em barras representa a comparação entre as KITTs de cada grupo. $n = 6$ a 8 ratos por grupo. $*p < 0,0071$ vs RED-SED.

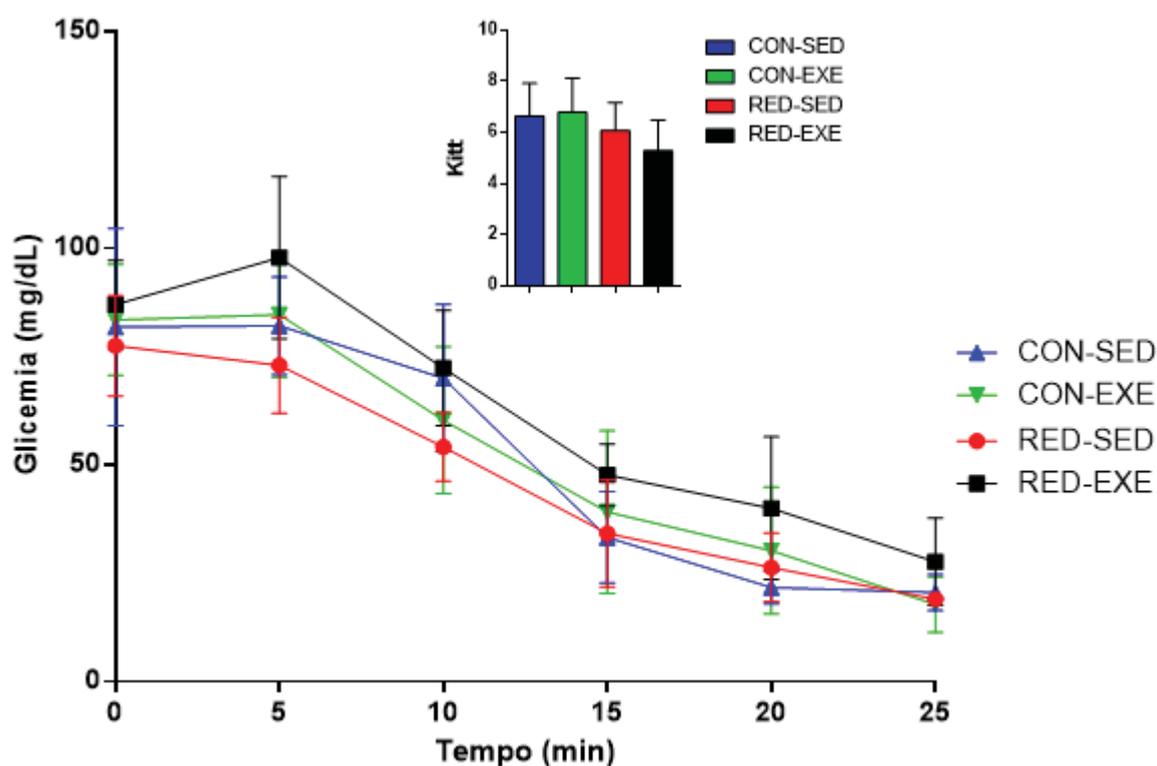


FIGURA 24. Teste de tolerância à insulina (ITT) dos ratos do grupo experimental G90, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE), aos 86 dias de vida. A sensibilidade à insulina foi avaliada por intermédio da Kitt, que não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados. n = 6 a 8 ratos por grupo.

4.7 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

Os resultados obtidos no teste de tolerância à glicose (GTT), para ambos os grupos experimentais (G60 e G90) não apresentaram diferença significativa entre os grupos estudados (figuras 25 e 26, respectivamente). Para avaliar a resposta à carga de glicose aplicada, foram comparados os valores das áreas sob as curvas dos respectivos grupos.

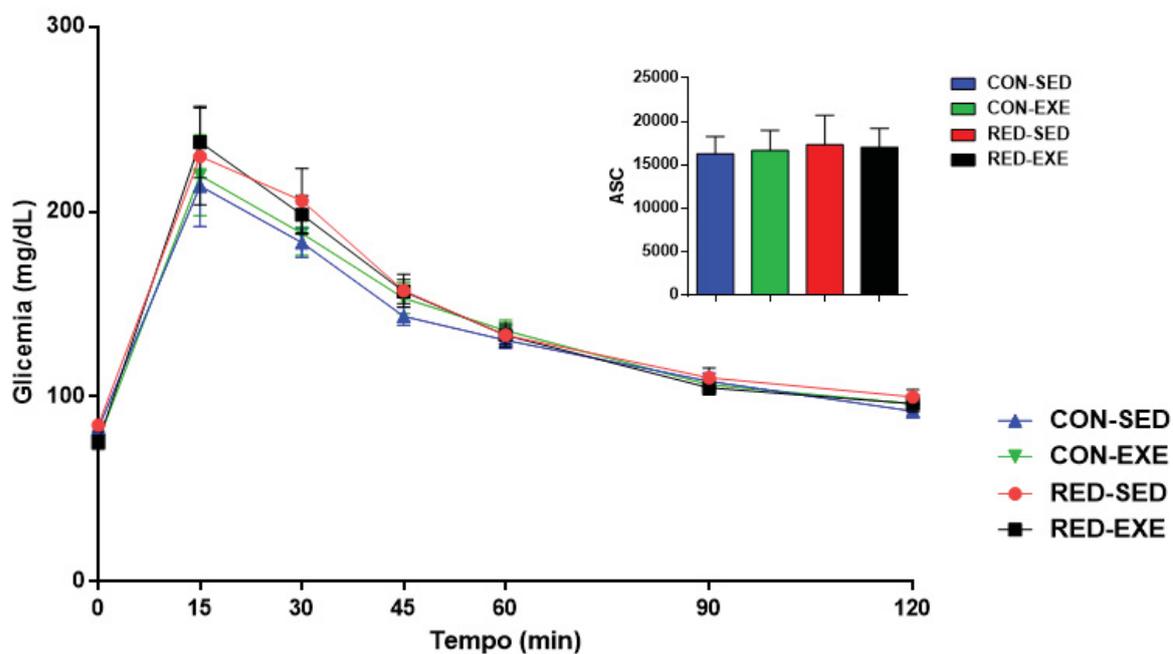


FIGURA 25. Teste de tolerância à glicose (GTT) aos 58 dias de vida, dos ratos pertencentes ao grupo experimental G60, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). O gráfico em barras demonstra a comparação entre as áreas sob as curvas. $n = 6$ a 8 ratos por grupo.

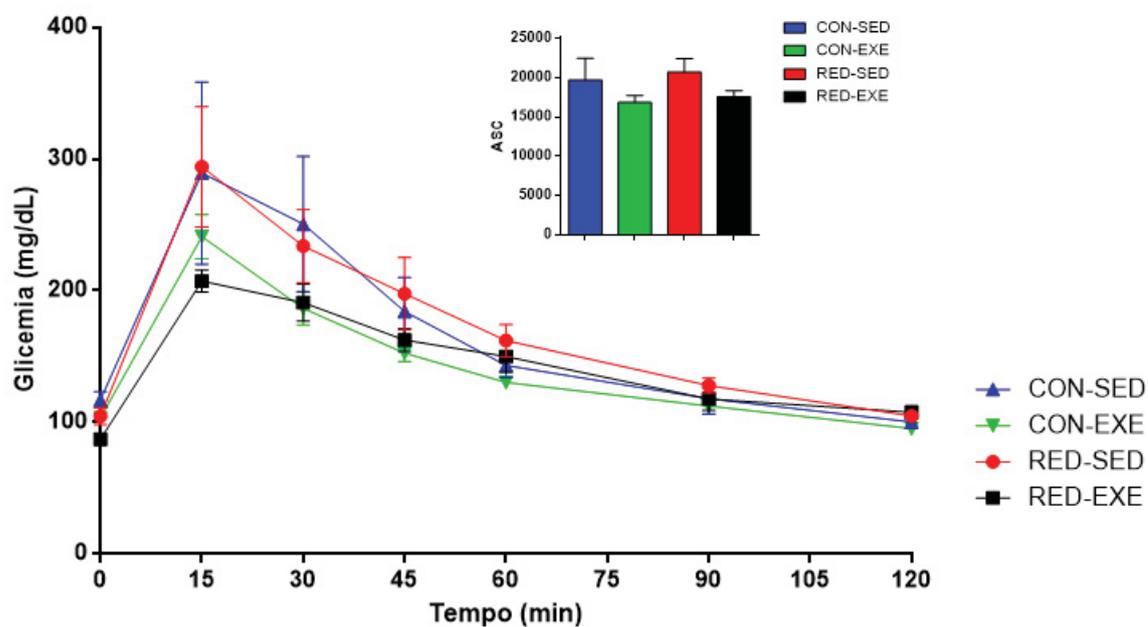


FIGURA 26. GTT do grupo experimental G90 aos 88 dias de vida, animais sedentários (CON-SED), obesos sedentários (RED-SED), exercitados (CON-EXE) e obesos exercitados (RED-EXE). O gráfico em barras ilustra o cálculo das áreas sob as curvas dos respectivos grupos. Não foram identificadas diferenças significativas. n = 6 a 8 ratos por grupo.

DISCUSSÃO

O aumento de massa corporal neonatal verificado em nosso estudo corrobora os resultados obtidos por Lira (2008) e Rodrigues et al., (2007), demonstrando a efetividade do modelo experimental adotado. Este aumento ocorre devido a um aporte nutricional maior durante a lactação, facilitado pela maior disponibilidade de leite aos animais de ninhada reduzida (NRED). A partir da primeira semana de vida, os ratos de ninhada NRED já apresentam massa corporal superior aos animais de ninhada controle (NCON). As alterações na ingestão alimentar durante este período parecem provocar alterações em nível hipotalâmico, especificamente em regiões do núcleo hipotalâmico ventromedial (NVM), responsável pela sinalização de saciedade (LI et al., 2002). Em razão da proximidade que o NVM apresenta com outra região do hipotálamo denominada núcleo arqueado (ARC), não somente a atividade do primeiro deve ser considerada quando se trata do controle da fome e saciedade, mas a interação entre estes dois núcleos (LANDEIRO e QUARANTINI, 2011).

Nesse sentido, Plagemann et al., (1999) realizaram experimentos envolvendo ratos de NRED e encontraram concentrações elevadas do neuropeptídeo galanina no ARC de animais que haviam sido submetidos a um aporte nutricional maior no período lactacional, além de hiperinsulinemia, hipertriacilglicerolemia, alterações na pressão arterial sistólica (PAS) e intolerância à glicose. Apesar dos resultados encontrados e do crescente interesse da comunidade científica por esta área, a explicação cabal para o desenvolvimento da obesidade a partir da programação metabólica em período lactacional permanece desconhecida.

Diversos trabalhos reportam a prossecução do comportamento hiperfágico ao longo da vida adulta, em animais que passaram por programação metabólica (LOIOLA et al., 2014). Em nossa pesquisa, porém, ficou claro que o modelo induziu hiperfagia apenas durante o período de aleitamento, pois como ilustra a figura 11, a ingestão alimentar após a introdução da ração foi semelhante para todos os grupos. Nossos dados corroboram os de Hou et al., (2011), que encontraram em animais submetidos a programação metabólica por redução de ninhada, hiperfagia somente até a quarta semana de vida, após a qual o consumo alimentar se manteve igual independentemente do grupo. Isto nos leva a crer que o cerne da questão está de fato em alterações neuronais hipotalâmicas, como por exemplo alterações

estruturais no NVM, que, como já documentado por Rinaldi et al., (2012), induzem mudanças na funcionalidade deste núcleo, que se torna menos responsivo a estímulos anorexígenos e favorece de alguma forma, o aumento da atividade do nervo vago subdiafragmático. Este aumento da atividade parassimpática é acompanhado de consequente aumento na liberação de insulina pelas células beta do pâncreas, e devido ao potente caráter anabólico desse hormônio, constitui uma das importantes vias que levam ao aumento da lipogênese.

Com relação ao índice de Lee, utilizado para detectar a presença ou não de obesidade, Nery et al., (2011) não encontraram diferenças entre animais submetidos a programação metabólica e de ninhada normal, independentemente ainda se eram sedentários ou exercitados, e esses dados são corroborados por nossos resultados, nos quais foi notada diferença apenas na mensuração realizada aos 21 dias de vida. A ausência de diferença significativa entre os índices de Lee na idade adulta deve-se muito provavelmente ao fato de que a taxa específica de ganho de massa varia de forma decrescente ao longo do tempo, de modo que entre 6 e 30 dias, a taxa é aproximadamente 5 vezes maior que aquela verificada entre os 60 e os 110 dias de vida (NERY et al., 2011).

Adicionalmente ao índice de Lee, outros parâmetros são utilizados para quantificar o nível de adiposidade, dentre os quais, a massa relativa dos panículos adiposos, ou seja, gramas de tecido adiposo/gramas de massa corporal*100. Neste trabalho, os animais do grupo G60 não diferiram em massa relativa de TAB. Sugere-se que isto ocorra devido à redução transitória na taxa específica de crescimento, que se dá entre o período pós-desmame e os 75 dias, quando o padrão retorna à normalidade (FISCHER, 2014). Nesse seguimento, a análise da curva de crescimento ponderal (figura 20) nos permite inferir que a massa de todos os grupos aumentou semelhantemente até os 60 dias, tal qual aconteceu no trabalho de Fischer (2014), em que as diferenças de massa entre os grupos passaram a adquirir significância estatística apenas após o 75º dia.

Conquanto o TAB não apresentou diferença significativa entre os animais G60, o grupo destreinado (G90) mostrou TAB mais pronunciado. Nossos resultados demonstraram diferença estatística para as massas relativas dos tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e perigonadal, quando comparamos o grupo G90RSED com o G90CSED, de modo que para as três massas, o grupo G90RSED mostrou um aumento superior a 50% em relação ao G90CSED. Corroboramos, portanto, os

dados de Fischer (2014), que, ao comparar animais exercitados com animais sedentários, ambos aos 90 dias de vida, observou aumento de até 26 e 27% na massa relativa dos panículos adiposos perigonadal e retroperitoneal, respectivamente.

O TAM, cuja funcionalidade em seres humanos adultos já foi questionada devido a sua baixa concentração quando comparado a fetos e recém-nascidos, exerce fundamental importância em pequenos roedores, visto que está presente em grande quantidade em ratos independentemente da idade. Quantidades maiores são encontradas quando estes animais são submetidos a frio intenso ou exercício físico, ratificando sua função como produtores/dissipadores de calor (LEITE, 2014). Além disso, já se sabe que células do TAB, quando estimuladas, podem se diferenciar em TAM recrutável, ou seja, células semelhantes às do TAM, mas dentro do próprio tecido adiposo branco, contribuindo para aumento complementar do gasto energético (RODRÍGUEZ et al., 2017).

Nossos resultados em relação ao TAM corroboram os estudos de Leite (2014) e Rodríguez et al., (2017), e sustentam os dados obtidos por Xu et al., (2011), quando estudaram o efeito do exercício físico associado a dieta rica em gordura (*high fat*) nos depósitos de TAM de ratos. Os pesquisadores dividiram ratos aleatoriamente em quatro grupos, sendo: 1- sedentário + dieta normal; 2 - sedentário + dieta *high fat*; 3 - exercício + dieta normal; 4 - exercício + dieta *high fat*. O exercício consistiu em 40 minutos em esteira rolante 5 vezes por semana durante 8 semanas. Ao final, concluíram que os animais que pertenciam ao grupo exercitado, independentemente da dieta imposta, apresentavam aumento substancial no número de células progenitoras de adipócitos marrons. Ademais, a dieta *high fat* induziu disfunções vasculares nos ratos que pertenciam a estes grupos, sendo que os ratos do grupo exercício + *high fat* apresentaram melhor função vascular, ainda que com a mesma dieta.

Em nosso estudo, os ratos RED-EXE e CON-EXE do grupo G60 apresentaram quantidades elevadas de TAM em relação aos grupos sedentários, porém as diferenças não foram significativas quando comparou-se a quantidade de TAM dos ratos exercitados e sedentários do grupo G90. Tal ausência de diferença estatística possivelmente está ligada ao período de destreinamento pelo qual todos os grupos passaram entre 60 e 90 dias. Tanto os animais pertencentes aos grupos sedentários quanto aqueles dos grupos exercitados foram mantidos em situação de

sedentarismo durante os últimos 30 dias, e portanto, ao cessar o estímulo para o anabolismo do TAM, este tecido passou a sofrer catabolismo (BOSTRÖM et al., 2012).

No tocante a exercício físico, o TAM não é o único a ser beneficiado por esta prática, sendo amplamente conhecido seu potente efeito na redução da gordura corporal (FERNANDEZ et al., 2004; LU et al., 2016; HASSANNEJAD et al., 2017). Este efeito é dado não somente pelo incremento do metabolismo durante o próprio exercício, mas pela soma do alto gasto energético intra-exercício com o elevado gasto energético que segue após o término da sessão, conhecida também como EPOC (*Excess Postexercise Oxygen Consumption*). Apesar de a duração deste fenômeno ainda ser tema controverso, sugere-se que possa permanecer por várias horas, sendo que o tempo é diretamente proporcional à intensidade do exercício realizado (FOUREAUX et al., 2006; LIRA et al., 2007). São documentadas ainda, modificações positivas no perfil lipídico de praticantes de exercício físico regular, particularmente nas concentrações séricas de triacilgliceróis (TAG) e nas lipoproteínas LDL e HDL colesterol. Parece razoável crer que este impacto positivo está relacionado à maior atividade enzimática responsável pelo metabolismo lipídico, destacando-se a atividade da enzima lipase lipoproteica (LPL), responsável por catabolizar lipoproteínas ricas em TAG, reduzindo a formação de moléculas de LDL potencialmente aterogênicas, e conseqüentemente favorecendo o aumento nas concentrações de HDL colesterol (PRADO e DANTAS, 2002).

Há escassez de trabalhos que avaliaram o efeito do treinamento seguido de destreino, comparando animais obesos e eutróficos. Nesse sentido, Braga et al., (2006) conduziram um estudo no qual um grupo de ratos foi induzido à obesidade pela administração de MSG (glutamato monossódico), enquanto outro grupo recebeu administração de solução salina (SAL). Após o desmame, cada grupo foi subdividido em 3, sendo o grupo MSG: obeso sedentário (MSG-SED); obeso com treinamento contínuo de natação (MSG-CONT) e obeso com treinamento intervalado (MSG-INT). Grupo SAL: SAL-SED, SAL-CONT e SAL-INT. Os animais dos grupos treinados foram submetidos a 12 semanas de natação, e parte deles passou por período de 8 semanas de destreino, logo após a 12ª semana. Ao final da 20ª semana, os animais obesos totalmente sedentários apresentaram valores significativamente superiores aos dos grupos que treinaram natação por 12 semanas, tanto na massa de gordura epididimal quanto no teor de gordura na

carcaça. Estes dados são corroborados por nossos resultados, ao constatar-se que após 6 semanas de treinamento contínuo de natação e mais 4 semanas de destreinamento, os animais do grupo G90REXE apresentaram valores significativamente menores na massa dos depósitos de gordura mesentérica e retroperitoneal em comparação com o grupo G90RSED, levando-nos a inferir que o período de ausência de exercício exerceu pouca ou nenhuma influência sobre as adaptações adquiridas pelo grupo G90REXE ao longo das 6 semanas de treinamento.

Um dos principais fatores modulados pela prática de exercício físico, seja ela regular, proporcionando adaptações crônicas, ou esporádica, proporcionando adaptações agudas, diz respeito à captação de glicose pelas células musculares, mediada em situações de repouso, pela maior sensibilidade à insulina, e durante atividade, por outros mecanismos (ROPELLE et al., 2005). Representando em média 40% da massa corpórea de um ser humano, o músculo esquelético é o principal responsável pela metabolização de toda glicose que entra no organismo. Cerca de 30% do gasto energético total é dado pela atividade desse tecido (PAULI et al., 2009).

A glicose é captada pela célula muscular por difusão facilitada pelos transportadores GLUT4, que em resposta à ligação da insulina ao seu receptor ou a contrações musculares, são translocados em direção ao sarcolema (CARVALHEIRA et al., 2002). No entanto, de acordo com Richter e Hargreaves (2013), o número de transportadores translocados durante exercício físico justifica apenas o efeito benéfico agudo propiciado pelo exercício. É necessário também que haja maior expressão de proteínas GLUT4 insulino-dependentes no período pós-exercício, para que as adaptações crônicas sejam possíveis. Embora a via exata pela qual isso ocorre não tenha sido totalmente elucidada, a interferência do exercício físico na expressão destes transportadores parece estar associada de alguma forma ao aumento intracelular de AMPK (Proteína quinase ativada por AMP) e CaMKII (Proteína quinase dependente de Cálcio/calmodulina) (RICHTER E HARGREAVES, 2013).

GLUT4 são transportadores de glicose insulino-dependentes mais abundantes sobretudo na célula muscular esquelética e no adipócito, reafirmando a importância desta via como principal forma de captação de glicose. Com o aumento do TAB e consequente estabelecimento da obesidade, alterações nas vias de

transdução do sinal são passíveis de acontecer, tais como redução na concentração e/ou atividade dos receptores de insulina (IRs), alterações na concentração e fosforilação dos IRS-1 e IRS-2, decréscimo na atividade da PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase), problemas na translocação dos GLUTs ou redução na atividade das enzimas intracelulares (PAULI et al., 2009).

Em concordância com os fatos citados, o ITT realizado na presente pesquisa demonstrou diferenças significativas na sensibilidade à insulina dos animais pertencentes ao grupo G60, sendo que os ratos do grupo G60REXE apresentaram uma KITT (constante de decaimento da glicose) superior à dos os ratos do grupo G60RSED. Entre os outros grupos, as diferenças não foram significativas.

Para avaliar o efeito da insulina endógena, nossos animais foram submetidos a GTT, aos 58 e 88 dias, para os grupos G60 e G90, respectivamente. É conhecido que tanto o exercício físico de baixa intensidade quanto o de alta intensidade exercem efeitos positivos sobre a tolerância à glicose, sendo este efeito mais pronunciado após 24 horas do exercício (BONEN et al., 1998). Em nosso estudo, as diferenças entre os valores das áreas sob as curvas não foram significativas, tanto para os animais G60 quanto para os G90. No primeiro grupo, o exercício parece não ter sido suficientemente eficaz a ponto de modular positivamente a tolerância à glicose nos animais dos grupos G60CEXE ou reverter um possível quadro de relativa intolerância, que possivelmente se instalou na infância dos ratos G60REXE, com a redução da ninhada (MARQUES, 2014).

No que concerne à ausência de diferenças estatísticas entre as ASCs dos GTTs, é importante considerar também, que no período em que foram conduzidos os experimentos com os animais do grupo G60, o biotério no qual eles estavam alocados apresentou problemas com a luminosidade e com o ar condicionado. Levando em conta a característica homeotérmica destes animais e, portanto, sua alta capacidade de responder a variações térmicas, pode ser que as mudanças de temperatura ocorridas tenham ocasionado modificações metabólicas e comportamentais inesperadas e difíceis de serem mensuradas, tornando relativamente ineficiente em nosso caso, a indução de obesidade e resistência à insulina. Da mesma forma, alterações na luminosidade padrão (claro/escuro 12h) podem ter interferido no ciclo sono-vigília dos ratos e por fim descaracterizado parcialmente o modelo experimental utilizado (ANDRADE, 2002). Não menos importante é levar em conta o fator humano, isto é, falhas na preparação da solução

de glicose a ser aplicada no teste, que, por imperícia do avaliador podem ter ocorrido e desviado os resultados da normalidade. Isto posto, é interessante notar-se que a tolerância à glicose pode ser influenciada por fatores ambientais e estilo de vida, porém o maior impacto sobre a homeostase glicêmica é dado pela idade (BROUGHTON e TAYLOR, 1991; CIPRIANO et al., 2006). No presente estudo, pôde-se constatar isso mediante uma breve comparação entre as figuras 25 e 26, em que as ASCs dos animais RED-SED e CON-SED, principalmente, mostraram-se maiores no grupo G90 em relação a G60. Partindo-se da premissa de que o único fator a que os animais estavam expostos, e por conseguinte, único fator que poderia alterar o teste, era o tempo, inferimos que tão somente a idade foi responsável por reduzir a tolerância à glicose nos animais sedentários do grupo G90, como observado por Cipriano et al., (2006). Contrariando este padrão, os animais do grupo G90REXE parecem não ter sofrido redução na sensibilidade à glicose com o passar do tempo, de modo que apresentaram sensibilidade à glicose semelhante à dos animais G60REXE, levando-nos a acreditar que, durante o período de destreinamento houve ativação de mecanismos que não conhecemos, mas que se deram exclusivamente em resposta à realização precoce do exercício, na tentativa de frear o desenvolvimento das repercussões nocivas advindas da obesidade, o que entendemos, mais precisamente, como efeito residual do exercício físico.

CONCLUSÕES

A programação metabólica por redução de ninhada provoca aumento da adiposidade a partir das primeiras semanas de vida, e redução na sensibilidade à insulina.

O exercício físico realizado precocemente é capaz de promover efeitos benéficos crônicos sobre a obesidade, atenuando seu caráter nocivo, reduzindo adiposidade e melhorando a sensibilidade à glicose em comparação com sedentários.

O destreinamento pode reduzir parcialmente as adaptações crônicas adquiridas por exercício físico, porém, é evidente a presença de efeito residual, que justifica a realização de exercício em qualquer fase da vida.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, A; PINTO, S. C; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002.

BARBALHO, S; QUESADA, K; BECHARA, M. D. Aspectos oxidativos da síndrome metabólica e aterosclerose. **Scientia Medica**, novembro, 2015.

BARRILE, S. R; CONEGLIAN, C. B; GIMENES, C; CONTI, M. H. S; ARCA, E. A; JUNIOR, G. R; MARTINELLI, B. Efeito agudo do exercício aeróbio na glicemia em diabéticos 2 sob medicação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 21, setembro/outubro, 2015.

BENJAMIN, C. The Global Epidemic of Obesity: An Overview, **Epidemiologic Review**, 29 (1): 1-5; 2007.

BERNARDIS, L. L; PATTERSON, B. D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, vol. 40 (4), 527-528, 1968.

BIELEMANN, R. M; GONZALEZ, M.C; SILVA, T. G. B; ORLANDI, S. P; XAVIER, M.O; BERGMANN, R. B; ASSUNÇÃO, M. C. F. Estimation of body fat in adults using a portable A-mode ultrasound. **Clinical Nutrition Experimental**, vol. 32, p. 441 - 446, abril, 2016.

BLOOR, I. D; SYMONDS, M. E. Sexual dimorphism in white and brown adipose tissue with obesity and inflammation. **Hormones and Behavior**, junho, 2014.

BONEN, A; BALL-BURNETT, M; RUSSEL, C. Glucose Tolerance Is Improved After Low- and High-Intensity Exercise in Middle-Age Men and Women. **Canadian Journal of Applied Physiology**, 1998.

BOSTRÖM, P; WU, J; JEDRYCHOWSKI, M. P; KORDE, A; YE, L; LO, J. C; RASBACH, K. A; BOSTRÖM, E. A; CHOI, J. H; LONG, J. Z; KAJIMURA, S; ZINGARETTI, M. C; VIND, B. F; TU, H; CINTI, S; HOJLUND, K; GYGI, S. P; SPIEGELMAN, B. M. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, janeiro, 2012.

BRAGA, L; MELLO, M; MANCHADO, F; GOBATTO, C. Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do destreinamento sobre o peso corporal e o metabolismo muscular de ratos obesos. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, vol. 6, maio, 2006.

BROUGHTON, D. L; TAYLOR, R. Deterioration of Glucose Tolerance with Age: The Role of Insulin Resistance. **Age and Ageing**, maio, 1991.

CABALLERO B. The global epidemic of obesity: an overview. **Epidemiologic Reviews**, vol. 9, 1-5, 2007.

CARVALHEIRA, J. B. C; ZECCHIN, H G; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, vol. 46, agosto, 2002.

CIOLAC, E. G; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e Síndrome metabólica. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 10, n. 4, julho/agosto, 2004.

CIPRIANO, D. O; LIMA, H. V; SOUZA, A. A. S; SIVA, M. C. F. C; SANTOS, A. C. O. Freqüência de indivíduos com intolerância à glicose em jejum em um hospital universitário: comparação de critérios diagnósticos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, vol. 42, dezembro, 2006.

CLARA, H. S; PINTO, I; SANTOS, V; PINTO, R; MELO, X; ALMEIDA, J. P; PIMENTA, N; ABREU, A; MENDES, M. Atividade física e exercício físico: especificidades no doente cardíaco. **Factores de Risco**, n. 35, janeiro-março, 2015.

COHEN, P; SPIEGELMAN, B. M. Brown and Beige Fat: Molecular Parts of a Thermogenic Machine. **American Diabetes Association**, julho, 2015.

CUNHA, M. G; CUNHA, A. L. G; MACHADO, C. A. Hipoderme e tecido adiposo subcutâneo: duas estruturas diferentes. **Surgical and Cosmetic Dermatology**. Vol. 6, 2014.

DJALMA JOSÉ FAGUNDES, D. J; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol. 19, janeiro/fevereiro, 2004.

EVANGELISTA, F. S; BRUM, P. C. Efeitos do destreinamento físico sobre a performance do atleta: uma revisão das alterações cardiovasculares e músculo-esqueléticas. **Revista Paulista de Educação Física**, julho/dezembro, 1999.

FERNANDEZ, A. C; MELLO, M. T; TUFIK, S; CASTRO, P. M; FISBERG, M. Influência do treinamento aeróbio e anaeróbio na massa de gordura corporal de adolescentes obesos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 10, maio/junho, 2004.

FERRANTE, A. W. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. **Journal of Internal Medicine**, setembro, 2007.

FEUERER, M; HERRERO, L; CIPOLLETTA, D; NAAZ, A; WONG, J; NAYER, A; LEE, J; GOLDFINE, A. B; BENOIST, C; SHOELSON, S; MTHIS, D. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. **Nature Medicine**, agosto, 2009.

FISCHER, S. V. **O exercício físico e o controle secretor de insulina na obesidade induzida por marcação metabólica**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2014.

FOUREAUX, G; PINTO, K. M. C; DÂMASO, A. Efeito do consumo excessivo de oxigênio após exercício e da taxa metabólica de repouso no gasto energético. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 12, novembro/dezembro, 2006.

HARMS, M; SEALE, P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. **Nature Medicine**, vol. 19, setembro, 2013.

HASSANNEJAD, A; KHALAJ, A; MANSOURNIA, M. A; RAJABIAN TABESH, M; ALIZADEH, Z. The Effect of Aerobic or Aerobic-Strength Exercise on Body Composition and Functional Capacity in Patients with BMI ≥ 35 after Bariatric Surgery: a Randomized Control Trial. **Obesity Surgery**, maio, 2017.

HOU, M; LIU, Y; ZHU, L; SUN, B; GUO, M; BURÉN, J; LI, X. Neonatal Overfeeding Induced by Small Litter Rearing Causes Altered Glucocorticoid Metabolism in Rats. **Plos One**, novembro, 2011.

KEISUKE, S; CHANNA, N. J; AND STEPHEN R. B. OBESITY AND APPETITE CONTROL, **Experimental Diabetes Research**, vol. 2012 (2012).

LANDEIRO, F. M; QUARANTINI, L. C. Obesidade: Controle Neural e Hormonal do Comportamento Alimentar. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, vol. 10, setembro/dezembro, 2011.

LEITE, J. P. **O efeito do treinamento físico sobre a resistência à insulina em animais tratados com dieta hiperlipídica: modulações de fatores inflamatórios sobre o tecido adiposo branco e marrom de ratos Wistar**. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Médica) - Universidade Estadual de Campinas, 2014.

LEITE, L. D; ROCHA, E. D. M; NETO, J.B. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde**, vol. 2, julho/dezembro, 2009.

LI, Y; PLAGEMANN, A; DAVIDOWA, H. Increased inhibition by agouti-related peptide of ventromedial hypothalamic neurons in rats overweight due to early postnatal overfeeding. **Neuroscience Letters**, vol. 330, setembro, 2002.

LIRA, F. S; OLIVEIRA, R. S. F; JULIO, U. F; FRANCHINI, E. Consumo de oxigênio pós-exercícios de força e aeróbio: efeito da ordem de execução. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 13, n. 6, Niterói, novembro/dezembro, 2007.

LIRA, L. O. **Hiperalimentação durante a lactação: repercussões sobre o crescimento somático, desenvolvimento sensorio motor e controle serotoninérgico do controle alimentar em ratos**. Dissertação (Mestrado em nutrição) - Departamento de nutrição da Universidade Federal do Pernambuco, 2008.

LOIOLA, M. S. M; BRANQUINHO, N. T. D; SANTOS, E. R; SAKAKIMA, G. M; PEDROSA, M. M. D; BARONI, E. A. Morfofisiologia renal de ratas Wistar submetidas ao protocolo redução de ninhada. **Arquivos do MUDI**, vol. 18, 2014.

LÓPEZ, M; TENA-SEMPERE, M. Estradiol effects on hypothalamic AMPK and BAT thermogenesis: a gateway for obesity treatment? **Pharmacology and Therapeutics**, março, 2017.

LU, Y; LI, H; SHEN, S; SHEN, Z; XU, M; YANG, C; LI, F; FENG, Y; YUN, J; WANG, L; QI, H. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. **Lipids in Health and Disease**, maio, 2016.

LUTZ, T. A; WOODS, S. C. Overview of Animal Models of Obesity. **Current Protocols in Pharmacology**, setembro, 2013.

MARQUES, S. E. **Influência da redução de ninhada sobre o comportamento materno e respostas comportamentais e endócrinas da prole na fase adulta**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Alfenas - MG, 2014.

MCARDLE, W. D; KATCH, F. I; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício. Energia, nutrição e desempenho humano**. 5ª edição, 2003.

MICHELIN, E; COELHO, C. F; BURINI, R. C. Efeito de um mês de destreino sobre a aptidão física relacionada à saúde em programa de mudança de estilo de vida. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol 14, nº 3, maio/junho, 2008.

NATOLI, G; MONTICELLI, S. Macrophage activation: glancing into diversity. **Immunity**, vol. 40, fevereiro, 2014.

NERY, C, S; PINHEIRO, I. L; MUNIZ, G. S; VASCONCELOS, D. A. A; FRANÇA, S. P; NASCIMENTO, E. Medidas Murinométricas e Eficiência Alimentar em Ratos Provenientes de Ninhadas Reduzidas na Lactação e Submetidos ou Não ao Exercício de Natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 17, janeiro/fevereiro, 2011.

PAULI, J. R; CINTRA, D. E; SOUZA, C. T; ROPELLE, E. R. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, maio, 2009.

PEREIRA, S. S. **Estudo comparativo do tecido adiposo visceral e o subcutâneo entre indivíduos eutróficos e obesos grau III metabolicamente normais**. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

PICKHARDT, P. J; JEE, Y; O'CONNOR, S. D; DEL RIO, A. M. Visceral Adiposity and Hepatic Steatosis at Abdominal CT: Association With the Metabolic Syndrome. **American Journal of Roentgenology**, vol. 198, maio, 2012.

PLAGEMANN, A; HARDER, T; RAKE, A; VOITS, M; FINK, H; ROHDE, W; DÖRNER, G. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. **Brain Research**, vol. 836, julho, 1999.

PLAGEMANN, A; HARDER, T; RAKE, A; WAAS, T; MELCHIOR, K; ZISKA, T; ROHDE, W; DÖRNER, G. Observations on the orexigenic hypothalamic neuropeptide Y-system in neonatally overfed weanling rats. **Journal of Neuroendocrinology**, julho, 1999.

PRADO, E. S; DANTAS, E. H. M. Efeitos dos Exercícios Físicos Aeróbio e de Força nas Lipoproteínas HDL, LDL e Lipoproteína(a). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, vol. 79, outubro, 2002.

PRADO, W. L; LOFRANO, M. C; OYAMA, L. M; DÂMASO, A. R. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 15, setembro/outubro, 2009.

REZENDE, R; SANTOS, C; DUBOW, C; VARGAS, S,C; POHL, H.H; PAIVA, D.N. Efeitos do exercício físico na resistência à insulina em indivíduos obesos. **Cinergis**, Santa Cruz do Sul, vol. 17, n. 3, set. 2016.

RICHTER, E. A; HARGREAVES, M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. **Physiological Reviews**, vol. 93, julho, 2013.

RINALDI, W; RIBEIRO, T. A. S; MARQUES, A. S; FABRICIO, G. S; TÓFOLO, L. P; GOMES, R. M; MENDES, F. C. V; MATHIAS, P. C. F. Efeito da redução de ninhada sobre as respostas autonômicas e metabólicas de ratos Wistar. **Revista de Nutrição**, vol. 25, maio/junho, 2012.

RODRIGUES, A. L; SOUZA, E. P; SILVA, S. V; RODRIGUES, D. S; NASCIMENTO, A. B; BARJA-FIDALGO, C; FREITAS, M. S. Low expression of insulin signaling

molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. **Journal of Endocrinology**, outubro, 2007.

RODRÍGUEZ, A; BECERRIL, S; EZQUERRO, S; MÉNDEZ-GIMÉNEZ, L; FRÜHBECK, G. Crosstalk between adipokines and myokines in fat browning. **ACTA Physiologica**, fevereiro, 2017.

ROPELLE, E. R; PAULI, J. R; CARVALHEIRA, J. B. C. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica. **Motriz**, vol. 11, janeiro/abril, 2005.

SAKURAI, T; OGASAWARA, J; SHIRATO, K; IZAWA, T; OH-ISHI, S; ISHIBASHI, Y; RADÁK, Z; OHNO, H; KIZAK, T. Exercise Training Attenuates the Dysregulated Expression of Adipokines and Oxidative Stress in White Adipose Tissue. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, vol. 2017, 12 pages, 2017.

SHUSTER, A; PATLAS, M; PINTHUS, J.H; MOURTZAKIS, M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. **The British Institute of Radiology**. Janeiro, 2014.

SIGAL, R. J; KENNY, G. P; WASSERMAN, D. H; CASTANEDA-SCEPPA, C. Physical Activity/Exercise and Type 2 Diabetes. **American Diabetes Association**, outubro, 2004.

SILVA, J. L.T; GUEDES, D. P; BARBOSA, D. S; OLIVEIRA, J. A; GUEDES, J. E. R. P. Obesidade centrípeta e disfunções metabólicas: patogenia, mensuração e papel profilático do exercício físico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, vol. 23, 2002.

SPIEGELMAN, B. M; FLIER, J. S. Obesity and the Regulation of Energy Balance. **Cell**. Fevereiro, 2001.

SPOTO, B; DI BETTA, E; MATTACE-RASO, F; SIJBRANDS, E; VILARDI, A; PARLONGO, R. M; PIZZINI, P; PISANO, A; VERMI, W; TESTA, A; CUTRUPI, S; D'ARRIGO, G; LONARDI, S; TRIPEPI, G; CANCARINI, G; ZOCCALI, C. Pro-and anti-inflammatory cytokine gene expression in subcutaneous and visceral fat in severe obesity. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, vol. 24, outubro, 2014.

STANFORD, K. I; MIDDELBECK, R. J. W; GOODYEAR, L. J. Exercise Effects on White Adipose Tissue: Being and Metabolic Adaptations. **American Diabetes Association**, set, 2015.

TOSSIGE-GOMES, R; OTTONE, V. O; OLIVEIRA, P. N; VIANA, D. J. S; ARAÚJO, T. L; GRIPP, F. J; ROCHA-VIEIRA, E. Leukocytosis, muscle damage and increased lymphocyte proliferative response after an adventure sprint race. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, maio/junho, 2014.

WHO. BMI classification. 2004.

WHO. Obesity and overweight. 2016.

WHO. Obesity and overweight. 2017.

XAVIER, J. L. P; SCOMPARIN, D. X; RIBEIRO, P. R; CORDEIRO, M. M; GRASSIOLLI, S. Programação metabólica: causas e consequências. **Visão Acadêmica**, Curitiba, vol. 16, dezembro, 2015.

XU, X; YING, Z; CAI, M; XU, Z; LI, Y; JIANG, S. Y; TZAN, K; WANG, A; PARTHASARATHY, S; HE, G; RAJAGOPALAN, S; SUN, Q. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, março, 2011.