

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ASSOCIADO EM  
EDUCAÇÃO FÍSICA – UEM/UEL

LAIZE PERON TÓFOLO

---

**EFEITO PROTETOR DO EXERCÍCIO  
FÍSICO AERÓBICO DE CURTO PRAZO  
SOBRE FUNÇÕES  
CARDIOMETABÓLICAS EM RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA  
HIPERLIPÍDICA**

---

Maringá  
2013

LAIZE PERON TÓFOLO

---

**EFEITO PROTETOR DO EXERCÍCIO  
FÍSICO AERÓBICO DE CURTO PRAZO  
SOBRE FUNÇÕES  
CARDIOMETABÓLICAS EM RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA  
HIPERLIPÍDICA**

---

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação  
Associado em Educação Física –  
UEM/UEL, para obtenção do título de  
Mestre em Educação Física.

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar de Freitas Mathias**

Maringá  
2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Tófolo, LaizePeron

T644eEfeito protetor do exercício físico aeróbico de curto prazo sobre  
funções cardiometabólicas em ratos submetidos a uma dieta  
hiperlipídica. / Laize Peron Tófolo. -- Maringá, 2013.

78f. :il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr.Paulo Cezar de Freitas Mathias.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de  
Ciências da Saúde,Departamento de Educação Física, Programa de  
Pós-Graduação Associado em Educação Física - UEM/UEL, 2013.

1. Exercícios físicos. 2. Dieta hiperlipídica. 3.Desordem cardiometabólica.I.Mathias,Paulo Cezar de Freitas, orient. II.Universidade Estadual de Maringá.Centro de Ciências da Saúde.Departamento de Educação Física. Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física UEM/UEL.III. Título.

CDD 21.ed.616.398

AHS

**LAIZE PERON TÓFOLO**

**EFEITO PROTETOR DO EXERCÍCIO FÍSICO  
AERÓBICO DE CURTO PRAZO SOBRE  
FUNÇÕES CARDIOMETABÓLICAS EM RATOS  
SUBMETIDOS A UMA DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEM/UEL, na área de concentração em Desempenho Humano e Atividade Física, para obtenção do título de Mestre.

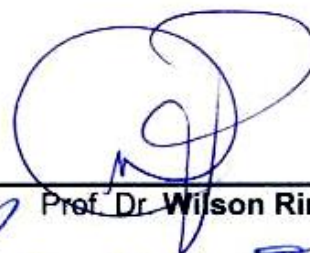
APROVADA em 20 de fevereiro de 2014.



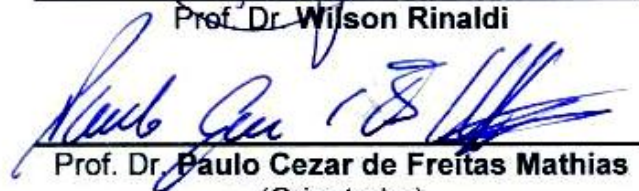
Profa. Dra. **Deborah Sloboda**



Profa. Dra. **Késia Gemima Palma Rigo  
Wutzow**  
(Coorintadora)



Prof. Dr. **Wilson Rinaldi**



Prof. Dr. **Paulo Cezar de Freitas Mathias**  
(Orientador)

# Dedicatória

---

---

*Dedico este trabalho a minha família, especialmente a meus pais, pelos ensinamentos concedidos, aos quais o meio acadêmico não proporciona. Pela transmissão de valores éticos e morais, pela paciência, apoio e amor incondicional.*

TÓFOLO, Laize Peron. **Efeito protetor do exercício físico aeróbico de curto prazo, sobre funções cardiometabólicas em ratos submetidos a uma dieta hiperlipídica:** 2013. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

## RESUMO

---

---

O estilo de vida sedentário e a alimentação com alto teor calórico influenciam diretamente no descontrole energético e metabólico, sendo estes, fortes preditores para o aumento da obesidade nos últimos anos. No entanto, a realização de exercício físico é considerado um eficiente tratamento não farmacológico contra as doenças decorrentes da obesidade. Assim, o objetivo do presente estudo foi testar se o exercício físico aeróbico, com intensidade moderada, realizado por um curto período e frequência, oferece proteção contra as disfunções cardiometabólicas induzidas por ingestão de dieta rica em gordura em ratos adultos. Para isso, ratos machos com 60 dias, foram submetidos a um programa de exercício três vezes na semana por 30 dias. No final do protocolo de exercício físico, ratos treinados, receberam dieta hiperlipídica (HFD) por 30 dias (HFD-EXE). Animais sedentários receberam HFD (HFD-SED). Outros dois grupos exercitados (NFD-EXE) ou sedentários (NFD-SED), foram tratados com dieta comercial. O consumo de ração e o peso corporal foram medidos semanalmente. Aos 120 dias de vida, os animais foram submetidos ao teste de tolerância a glicose intravenoso para posteriores dosagens de glicemia e insulinemia. Um grupo a parte, foi utilizado para verificar parâmetros cardiovasculares e a atividade elétrica dos nervos autonômicos. Posteriormente foram retirados e pesados os estoques de gordura retroperitoneal, periepídídimal e mesentérica. Os dados foram analisados no programa estatístico GraphPad Prism, versão 6.0 com os testes T-Student ou Anova Two-Way e pós teste de Tukey. Nossos resultados mostram que o ganho de peso corporal induzido pela DH foi prevenido em animais previamente exercitados. O exercício físico não afetou o consumo alimentar, contudo a DH reduziu a ingestão. A DH induziu um aumento nos estoques de gordura corporal, o qual foi impedido pela realização prévia de exercício físico. O descontrole glicêmico provocado pela ingestão de DH foi impedido pela realização prévia do exercício físico. A DH aumentou a atividade vagal e o exercício físico prévio impediu este aumento e estimulou maior atividade simpática em animais controles. O exercício físico prévio diminuiu a pressão sistólica e diastólica de animais controles, contudo, a DH bloqueou este efeito em animais HFD. Conclui-se que o exercício físico realizado previamente impediu o aumento de gordura corporal, disfunção glicêmica e disfunção autonômica. Já a ingestão de DH foi eficaz em aumentar a quantidade de gordura corporal, desenvolver descontrole glicêmico e autonômico e impedir os efeitos do exercício físico sobre a pressão arterial.

Palavras-Chave: Exercício físico. Dieta hiperlipídica. Disfunções cardiometabólicas.

TÓFOLO, Laize Peron. **Protector effect of aerobic short term physical exercise on the cardiometabolic functions in rats submitted a hiperlipídic diet**: 2013. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Cidade, Maringá, 2013.

## ABSTRACT

---

---

The sedentary lifestyle and the feeding with high caloric content influence directly in energetic and metabolic descontrol, these being, Strong predictors for a increase of a obesity in last years. However, the practice on physical exercise is considered a efficient non-pharmacological tratament against disease resulting of obesity. So, the objective of study was tested whether the aerobic physical exercise, with moderate intensity, performed for a short term and frequence, offer pretection against the cardiometabolic dysfunctions induced for intake a high fat diet in adult rats. So, the objective of study was tested whether the aerobic physical exercise, with moderate intensity, performed for a short term and frequence, offer protection against the cardiometabolic dysfunctions induced for intake a high fat diet in adult rats. For this, male rats with 60 days-old, were submitted to exercise program three times a week for 30 days. At the end of the exercise protocol, trained rats received a high fat diet (HFD) for 30 days (HFD-EXE). Sedentary animals receiving HFD (HFD-SED). Other two exercise groups (NFD-EXE) or sedentary (SED-NFD), were treated with commercial diet. Food intake and body weight were measured weekly. At 120 days- old, the animals were subjected to intravenous glucose tolerance test for subsequent measurement of blood glucose and insulin. A group apart, was used to verify cardiovascular parameters and electrical activity of the autonomic nerves. Subsequently were removed and weighed the retroperitoneal, periepididymal and mesenteric fat stores. The data were analyzed in the statistical program GraphPad Prism, version 6.0 with the t-test or two-way ANOVA test and Tukey post test. Our results show that body weight gain induced by DH was prevented in previously trained animals. Exercise did not affect food intake, yet DH reduced food intake. The HFD induced an increase in body fat stores, which was prevented by prior execution of exercise. The glycemic uncontrolled caused by ingestion of DH was prevented by prior execution of the exercise. The HFD induced an increase in body fat stores, which was prevented by prior execution of exercise. The glycemic uncontrolled caused by ingestion of DH was prevented by prior execution of the exercise. The DH increased vagal activity and previous physical exercise prevented this increase and stimulate higher sympathetic activity in control animals. The prior exercise reduced the systolic and diastolic control animals, however, the HFD intake blocked this effect in HFD animals. It is concluded that previous physical exercise prevented the increase in body fat, glycemic dysfunction and autonomic dysfunction. Already HFD intake was effective in increasing the amount of body fat, develop of glycemic and autonomic uncontrolled and prevent the effects of physical exercise on blood pressure.

**Keywords: Exercise. Fat diet. Cardiometabolic disorders.**

## LISTA DE FIGURAS

---



---

<b>- Esquema dos grupos experimentais.</b>	- Esquema dos grupos experimentais.....	19
<b>Figura 2 -</b>	Figura 2 – Programa de exercício, dos 60 aos 90 dias de idade.....	21
<b>Figura 3 -</b>	Figura 3- Curva do consumo de ração comercial e hiperlipídica (gramas/semana) de grupos sedentários e exercitados. A seta indica o momento em que foi inicializado a transição de DC para DH. # # # indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e HFD-SED. + indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. ** indica diferença estatística ( $P < 0,01$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. Anova two-way, pós teste de Tukey.....	27
<b>Figura 4 -</b>	Figura 4- Painel A: Curva do peso corporal (g) de grupos sedentários e exercitados, que consumiram ração padrão e hiperlipídica, dos 60 aos 120 dias. # # # indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e HFD-SED. + indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. □ indica diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e □□□ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. Painel B: Peso corporal final aos 120 dias. # indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos que consumiram DH em relação aos seus controles que consumiram ração comercial. \$ indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos DH sedentário e exercitado.....	28
<b>Figura 5 -</b>	Figura 5- Gordura relativa. Gordura periepididimal (painel A), gordura retroperitoneal (painel B) e gordura visceral (painel C). # # # Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos que consumiram DH em relação aos seus controles que consumiram ração comercial. ++ Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. * Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e ** ( $p < 0,01$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. ANOVA two way, pós teste de Tukey.....	29



- Figura 6 -** Figura 6- Curva glicêmica durante o teste de tolerância a glicose e área sob a curva de ratos sedentários ou exercitados, tratados com DH ou ração comercial. # # Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e NFD-SED. + Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) ++ ( $p < 0,01$ ) +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. ANOVA two way, pós teste de Tukey..... 31
- Figura 7 -** Figura 7- Registro da atividade elétrica vagal (painel A) e simpática (painel B) dos nervos vago superior e simpático esplâncnico maior. # # Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. +++ Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. \*\*\* Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. ANOVA two-way e pós teste de Tukey..... 32  
2
- Figura 8 -** Painel 8 – Registro de pressão arterial sistólica, diastólica, frequência cardíaca e pressão de pulso em animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial ou hiperlipídica. # Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) # # ( $p < 0,01$ ) # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-EXE e NFD-EXE. \*\* Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os grupos NFD-EXE e NFD-SED. ANOVA two-way e pós teste de Tukey..... 33

# LISTA DE TABELAS

---

---

<b>Tabela 1 -</b>	Tabela 1 – Composição da ração padrão e Dieta Hiperlipídica (DH).....	19
<b>Tabela 2 -</b>	Tabela 2- Dados biométricos de animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial e <b>ração hiperlipídica</b> .....	26
<b>Tabela 3 -</b>	Tabela 3- Dados bioquímicos de animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial e ração hiperlipídica.....	30

# LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

---

<b>AGM</b>	Ácido Graxo Monoinsaturado
<b>AGP</b>	Ácido Graxo Poli-insaturado
<b>AGRP</b>	Agouti-related peptide
<b>AGS</b>	Ácido graxo saturado
<b>AUC</b>	Area Under Curve
<b>BDNF</b>	Brain Derived Neurotrophic Factor
<b>CART</b>	Transcrito regulado por cocaína e anfetamina
<b>CCS</b>	Centro de Ciências da Saúde
<b>CNA</b>	Comprimento naso-anal
<b>COBEA</b>	Código brasileiro de experimentação animal
<b>DC</b>	Dieta comercial
<b>DEF</b>	Departamento de Educação Física
<b>DH</b>	Dieta hiperlipídica
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>DOHaD</b>	Developmental origins of health and diseases
<b>GLUT-4</b>	Transportador de glicose tipo 4
<b>HFD</b>	High fat diet
<b>HFD-EXE</b>	Exercised high fat diet
<b>HFD-SED</b>	Sedentary high fat diet
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de geografia estatística
<b>IVGTT</b>	Teste de tolerância a glicose intra-venoso
<b>LBCS</b>	Laboratório de biologia celular da secreção
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipase
<b>NFD-EXE</b>	Exercised normal fat diet
<b>NFD-SED</b>	Sedentary normal fat diet
<b>NPY</b>	Neuropeptídeo Y
<b>ON</b>	Óxido nítrico
<b>OMS</b>	Organização mundial da saúde
<b>P.A</b>	Pressão arterial

<b>PAD</b>	Pressão arterial diastólica
<b>PAS</b>	Pressão arterial sistólica
<b>POMC</b>	Proopiomelanocortina
<b>P.P</b>	Pressão de pulso
<b>RNA<sub>m</sub></b>	Ácido ribonucleico mensageiro
<b>SNA</b>	Sistema nervoso autônomo
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SNS</b>	Sistema nervoso simpático
<b>T.A</b>	Tecido adiposo
<b>TAB</b>	Tecido adiposo branco
<b>TAM</b>	Tecido adiposo marrom
<b>TAG</b>	Triacilglicerol
<b>TMB</b>	Taxa metabólica basal
<b>UEM</b>	Universidade Estadual de Maringá
<b>UEL</b>	Universidade Estadual de Londrina
<b>VO<sub>2</sub>máx</b>	Volume máximo de oxigênio

# SUMÁRIO

---

---

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	04
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	04
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	04
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	05
<b>3.1 Programação metabólica</b> .....	05
<b>3.2 Obesidade e dieta com alto teor de gordura</b> .....	07
<b>3.3 Exercício físico e metabolismo</b> .....	10
<b>3.4 Hipertensão, dieta com alto teor de gordura e exercício físico</b> .....	13
<b>3.5 Exercício físico e sistema nervoso central</b> .....	15
<b>4 MÉTODOS</b> .....	19
<b>5 RESULTADOS</b> .....	25
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	40
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40
<b>ANEXOS</b> .....	47

# 1 INTRODUÇÃO

A obesidade distribui-se mundialmente e possui grande perspectiva de crescimento para os próximos anos. Conforme projeções realizadas pela Organização Mundial da Saúde, o grau de incidência dessa doença tem atingido proporções alarmantes, inclusive no Brasil (1). Estudos epidemiológicos correlacionam os insultos ambientais ocorridos em períodos críticos do desenvolvimento (gestação, lactação, infância e adolescência), onde se observa grande plasticidade neuronal, com alterações epigenéticas na vida adulta, o qual determina um padrão de saúde-doença. (2) (3) (4) (5).

A sociedade contemporânea ocidental consome uma dieta rica em ácidos graxos saturados, a qual apresenta altos teores calóricos (6) (7) (8). O aumento de ácidos graxos no organismo leva a disfunções periféricas e centrais, sobretudo na região hipotalâmica, que poderão perdurar ao longo da vida e desenvolver doenças cardiometabólicas. Já na periferia, este tipo de alimentação leva a uma desregulação positiva no balanço energético, que associado ao sedentarismo, pode desenvolver o aumento do TA (9). A multiplicação e hipertrofia deste tecido estimula alta atividade inflamatória, propiciando o maior descontrole energético (10) (11). Sabe-se que o tecido adiposo branco (TAB) é considerado um órgão endócrino e secreta inúmeros hormônios e citocinas pró-inflamatórias. A leptina, produzida e secretada pelo TAB faz uma ligação direta entre a periferia e o Sistema Nervoso Central (SNC).

O exercício físico é considerado um potencial tratamento não farmacológico para a obesidade e quando realizado de forma aeróbica, este atua no controle metabólico e promove a quebra de gordura corporal. O exercício físico utiliza os lipídios como fonte energética, por meio de um processo denominado lipólise. Este processo depende de estímulos simpáticos e hormonais que ativam as lipases e o processo de lipólise (12). Desta forma, o exercício físico contribui para o aumento do gasto e equilíbrio da balança energética. No entanto, em exercícios extenuantes a presença de ácido lático e insulina bloqueiam o processo de lipólise. Portanto, é necessário compreender a função do exercício físico, intensidade, duração do treinamento e

duração das sessões de treinamento, para determinar a contribuição dos substratos envolvidos e sua finalidade ao realizá-lo.

Além do controle metabólico, o exercício físico possui efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular. A hipertensão associa-se com doenças coronarianas, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca (WELFARE 2006). Dietas ricas em gordura levam a um aumento na concentração de colesterol na corrente sanguínea que podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, além de causar uma diminuição na dilatação dependente do endotélio nos vasos sanguíneos (13) (14) (15) (16). O controle da pressão arterial depende de mecanismos renais e autonômicos. A prática de exercício físico pode contribuir para amenizar ou tratar os efeitos maléficos da dieta rica em gordura, reduzindo a pressão arterial e frequência cardíaca em repouso. (17). A bradicardia em repouso é considerada um eficiente marcador do efeito do exercício físico que deve perdurar por até 24 horas após a realização do mesmo (18, 19) (20). Lesniewski, et al., (2013) apontam que a realização de exercício físico voluntário em ratos alimentados com DH, melhora a rigidez na artéria carótida e impede o impacto da ingestão da dieta nestes animais (21). Os efeitos benéficos do exercício sobre o metabolismo e sistema cardiovascular contribuem para a redução do risco de doenças cardiometabólicas.

Os distúrbios ocasionados pela ingestão de DH e a melhora destes, desencadeada pela prática de exercícios físicos, são mediados por mecanismos centrais, que podem desenvolver mudanças permanentes (22). O SNC é um importante centro regulador do estado cardiometabólico que atua através da ativação ou silenciamento de vias do SNA (vias simpáticas e parassimpáticas). Essas vias possuem dupla função, agindo de forma antagônica sobre mecanismos regulatórios do metabolismo e sistema cardiovascular. O objetivo do presente estudo foi testar se o exercício físico aeróbico, com intensidade moderada, realizado por um curto período e frequência, oferece proteção contra as disfunções cardiometabólicas induzidas por ingestão de dieta rica em gordura em ratos adultos.





## **2 OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo Geral**

- Analisar o efeito protetor do exercício físico aeróbico, com intensidade moderada, realizado por um curto período e frequência, sobre o perfil cardiometabólico de ratos submetidos à dieta hiperlipídica.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Identificar o efeito do exercício físico prévio e da ingestão posterior de dieta hiperlipídica sobre:
  - O consumo de ração e peso corporal
  - Acúmulo de gordura retroperitoneal, periepididimal e mesentérica
  - Controle glicêmico e insulinêmico
  - Tônus vagal e simpático
  - Pressão arterial e frequência cardíaca

# **3 REVISÃO DA LITERATURA**

## **3.1 Programação metabólica**

Muito se discute sobre a obesidade, no entanto, o aumento da prevalência de pessoas sobrepesadas e obesas no mundo está em crescente expansão. Vários fatores vêm sendo discutidos como os responsáveis por essa expansão. As condições socioeconômicas, e a melhoria na qualidade de vida, levaram os indivíduos a mudarem os hábitos de vida. As pessoas aumentaram o consumo de comidas rápidas e industrializadas com altos valores calóricos e ricos em gordura e passaram a frequentar os *fast foods*. Este tipo de alimentação ocidental juntamente com a diminuição ou falta de exercícios físicos levaram a um agravamento nesta situação. Além deste fator, as condições sociais, fetais, psicológicas, genéticas e ambientais influenciam diretamente neste aumento do número de obesos no mundo (23) (9).

Atualmente a obesidade é considerada uma condição patológica e classificada como uma doença epidêmica, que afeta milhares de pessoas, em diversos países, independente do gênero, faixa etária e raça (24). Em um relatório recente, a OMS mostrou que em 2009, 12% da população mundial estava obesa, 1 em cada 3 adultos no mundo eram hipertensos e as doenças crônicas causavam quase dois terços de todas as mortes no mundo (1). Ainda, a OMS apontou que em 2005, 400 milhões de pessoas no mundo estavam obesas, e projeções futuras apontam que para 2015, este número aumentará para 700 milhões (25). Já no Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), aponta que em 2009, uma em cada três crianças de 5 a 9 anos, estavam acima do peso. Nos adultos, o excesso de peso está presente em 50,1% dos homens e 48% das mulheres. Destaca-se ainda a região sul, que apresenta 56,8% dos homens e 51,6% das mulheres com excesso de peso. Este expansivo aumento já está atingindo a economia do país, com um custo alarmante de aproximadamente 1,5 bilhões de reais por ano de gastos com internações hospitalares, consultas médicas e medicamentos. Desse valor, 600 milhões são provenientes do

governo via Sistema Único de Saúde, e representam 12% do orçamento destinado à saúde (26).

Estudos epidemiológicos correlacionam os fatores e insultos ambientais ocorridos em períodos de desenvolvimento críticos da vida, com alterações posteriores da carga genética do indivíduo que determina um padrão de saúde-doença. Este fenômeno é conhecido como programação metabólica (2). Um exemplo claro disso é o resultado da escassez de alimentos durante a segunda guerra mundial sobre o desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta. Ravelli et al. estudaram uma população de 300.000 homens, filhos de mulheres expostas a escassez alimentar durante o cerco da Holanda pela Alemanha na segunda guerra mundial. Eles concluíram que se a mãe foi exposta a desnutrição durante o último trimestre da gestação, esse grupo apresentava uma baixa incidência de obesidade. No entanto, se a desnutrição ocorresse no primeiro semestre da gestação, a incidência de obesidade aumentava significativamente (27).

Atualmente um conceito bem explorado que vem sendo estudado, para o entendimento da etiologia de doenças metabólicas, é o conceito da origem do desenvolvimento da saúde e doença – DOHaD (Developmental Origins of Health and Diseases). Estudos apontam uma relação direta entre a desnutrição fetal e o risco de desenvolver doenças metabólicas e cardiovasculares na vida adulta (28). Para isso, vários trabalhos apontam estudos nos quais são aplicados insultos em janelas metabólicas, ou seja, nas fases que o indivíduo/animal está mais propenso ao desenvolvimento da plasticidade neural. Essas janelas metabólicas estão presentes nos seguintes períodos: gestação, lactação, infância e adolescência. Nessas fases, os estímulos recebidos, sejam eles comportamentais, ambientais e/ou nutricionais, provocam alterações metabólicas duradoras sobre a estrutura e função de um organismo, em fases mais tardias da vida (3) (4) (5).

Seguindo esta linha, Barker et al., desenvolveram uma hipótese de que condições adversas intra-uterinas e durante a infância aumentavam o risco de doenças metabólicas e cardiovasculares. Neste estudo, concluíram que indivíduos que nasciam com baixo peso, permaneciam biologicamente diferentes daqueles que nasciam com peso adequado e isso se prolongava até a vida adulta, apresentando maior pressão

arterial e propensão a desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (29). Esta hipótese ficou conhecida como “hipótese do fenótipo poupador” a qual propõe que o feto é capaz de se adaptar ao ambiente intra-uterino, otimizando o uso de suprimentos energéticos, no sentido de garantir sua sobrevivência. Ainda, de acordo com a OMS os riscos de obesidade provenientes dos fatores genéticos, estão interligados, conforme a suscetibilidade dos indivíduos para o excesso de peso e obesidade, quando expostos a determinados fatores ambientais (9). Os autores expuseram, que se o indivíduo tem alguma tendência a ganhar peso, e se o ambiente for propício a este ganho, seja por influências sociais ou ambientais, o indivíduo certamente, terá mais facilidade de aumentar o peso corporal.

### **3.2 Obesidade e Dieta com alto teor de gordura**

O excesso de tecido adiposo no corpo pode estar relacionado ao descontrole energético. Alimentações ricas em gordura são conhecidas por levar a um saldo positivo de gordura e conseqüentemente, acúmulo de tecido adiposo (30).

Muitos estudos utilizam a dieta rica em gordura, para analisar os efeitos sobre o organismo, já que esta se assemelha ao estilo de vida contemporâneo. Este tipo de estudo tem sido realizado desde os anos cinquenta com uma gama variável (30-78%) do consumo total de energia {Hariri, 2010 # 1}. Vários são os tipos de dietas manipuladas com a finalidade de desenvolver e estudar a obesidade. Buettner, (2007) comparou diferentes dietas ricas em gorduras e mostrou que a gordura derivada da banha animal pode ser recomendada com eficiência para o estudo de mudanças metabólicas associadas com a obesidade. No entanto, para uma dieta rica em gordura ter o potencial de desenvolver obesidade, torna-se mais importante a composição e tipo de ácido graxo utilizado, do que a quantidade do mesmo (31).

Estudos sugerem que os ácidos graxos saturados (AGS), são mais obesogênicos que os ácidos graxos poli-insaturados e monoinsaturados (AGP/ AGM). Isto pode ser explicado pelo fato de que os AGS sofrem menor oxidação que os AGP e com isso tendem a desenvolver maior acúmulo de gordura corporal {DeLany, 2000 # 8}.

Além disso, os AGS diminuem a taxa metabólica de repouso e a termogênese induzida pela dieta {Hariri, 2010 # 1}. Dois tipos de dieta, compostas por AGS com alto valor calórico e energético, são as dietas a base de gordura animal e àquela composta por nutrientes palatáveis, variados e saborosos, como, por exemplo, açúcares, produtos industrializados e refrigerantes. Nestas dietas ocorre a troca de calorias advindas de carboidratos por calorias derivadas de gordura (6) (7) (8).

Sabe-se que o consumo de dietas ricas em gordura ou dietas ocidentais, juntamente com o estilo de vida sedentário leva ao desenvolvimento da obesidade. Um conseqüentemente aumento da atividade inflamatória, hipertrofia e multiplicação do tecido adiposo branco (TAB), propicia o aumento deste tecido (10). O tecido adiposo (TA) é considerado um órgão endócrino, que possui atividades hormonais, regulado pelo Sistema Nervoso Central (SNC). Sua formação constitui-se de adipócitos, células especializadas em armazenar lipídeos na forma de triglicerol (TAG), que podem ser retidos em grandes quantidades. Outras células participam da constituição do TA, são elas: tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (32).

Além das variadas células constituintes do TA, ele é subdividido em dois tipos, o TAB e o tecido adiposo marrom (TAM) (26). Suas funções no corpo humano, localização anatômica e as células que os compõe apresentam funções distintas. Os adipócitos presentes no TAM apresentam diâmetro médio de 30-40  $\mu\text{m}$ , e no TAB o diâmetro é de 60-100  $\mu\text{m}$ . O TAM diminui com a idade e, em adultos, está quase ausente; é mais encontrado em fetos e recém nascidos e sua principal função é a regulação da temperatura corporal (termogênese), além de ser mais vascularizado e possuir maior quantidade de mitocôndrias (11).

Já, o TAB distribui-se generalizadamente por todo o corpo, envolvendo-se pela região subcutânea e visceral, e abrange também toda a musculatura e articulações. Por estar distribuído principalmente no tecido subcutâneo e nas vísceras, o TAB é um excelente isolante térmico e tem papel importante na manutenção da temperatura corporal. Armazena grande quantidade de energia, comparando aos carboidratos (9  $\text{kcal.g}^{-1}$  vs 4  $\text{kcal.g}^{-1}$ ) e é considerado o tecido mais importante para o

controle do balanço energético (11). Os adipócitos, além de armazenarem gordura, secretam uma série de citocinas pró-inflamatórias e adipocitocinas. Isto acontece em quadros de obesidade e em resposta a má alimentação e conseqüente expansão do tecido, que conseqüentemente geram uma atividade inflamatória e a multiplicação do mesmo (33). Um dos principais hormônios produzidos e secretados pelo TA é a Leptina que tem ação direta no SNC (32). A produção de leptina é proporcional a massa de TA. Tem como função, atuar em células do núcleo arqueado hipotalâmico, estimulando a expressão de neuropeptídeos catabólicos e anabólicos, que, por sua vez, inibem a ingestão alimentar e aumentam o gasto energético, através da inervação simpática (34) (35).

A ingestão de dietas ricas em gorduras leva a desregulação central de peptídeos localizados no hipotálamo, responsáveis pelo consumo alimentar e gasto energético (36). Além disso, observa-se um processo de inflamação hipotalâmica, na qual já é evidenciado após 1 semana de consumo dessas dietas e está relacionado a excessiva ingestão energética e resistência a insulina ou leptina hipotalâmica (37). Desta forma, a lipotoxicidade ocorrida no hipotálamo por meio do consumo de HFD, relaciona-se com uma disfunção neuronal, e, curiosamente, este fato pode ser revertido quando a gordura da dieta passa de saturada, para insaturada. Isto incluiu uma melhoria da inflamação hipotalâmica e a restauração da sensibilidade à leptina e insulina (38).

A regulação do balanço energético no hipotálamo é rapidamente comprometida quando se consome dietas com alto teor de gordura. Este comprometimento, induz inflamações que estimulam secreção de citocinas (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) e vias inflamatórias (IKK $\beta$  / NF- $\kappa$ B e JNK juntamente com o estresse oxidativo e retículo endoplasmático e a falha na autofagia. O descontrole dessas vias, podem causar desregulação na sinalização de insulina e leptina central (39). Um estudo realizado por de Souza, (2005) identificou que após 16 semanas de tratamento com HFD, ratos apresentaram uma ativação de vias inflamatórias no hipotálamo e a necessidade de auto regulação de citocinas inflamatórias. Isto se relaciona com a incapacidade da insulina de inibir a ingestão de alimentos (40). Além disso, Thaler, J.P et al., apontam

que tanto a plasticidade sináptica e neuronal, recentemente identificadas como mecanismos chave no equilíbrio de energia, são quase certamente comprometidos (37).

### 3.3 Exercício físico e metabolismo

O exercício físico é classificado como uma atividade realizada por meio de repetições sistemáticas de movimentos que, conseqüentemente, aumentam o consumo de oxigênio devido à solicitação muscular, gerando força e alterando a homeostase energética (41). Seus efeitos fisiológicos são classificados como agudos imediatos, agudos tardios e crônicos. Os efeitos agudos, dizem respeito à resposta direta do metabolismo à sessão de exercícios. Os efeitos agudos imediatos acontecem durante a execução do exercício, o que eleva a frequência cardíaca, aumenta a ventilação pulmonar e sudorese. Já os agudos tardios, dizem respeito à resposta metabólica ao longo das primeiras vinte e quatro horas (resposta que pode se prolongar por até setenta e duas horas após o exercício). Algumas características dos efeitos agudos tardios são a redução discreta dos níveis tensionais, a expansão do volume plasmático, a melhora da função endotelial e a potencialização da ação e o aumento da sensibilidade à insulina no músculo esquelético (42). Por fim, os efeitos crônicos, são chamados de adaptações a exposição frequente e regular ao exercício físico, representando as características morfofuncionais que diferenciam um indivíduo treinado de um sedentário. Essas características são: bradicardia em repouso, hipertrofia muscular, hipertrofia ventricular e aumento do consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2Máx}$ ) (41).

O exercício atua diretamente no equilíbrio do gasto energético diário, o qual é composto por três variáveis: Taxa metabólica basal (TMB), efeito térmico da atividade física e efeito térmico dos alimentos. A TMB é a que mais contribui para o gasto energético corporal, apresentando uma porcentagem de 60 a 75% do gasto total, agindo diretamente na manutenção dos sistemas em repouso e produzindo calor para sua manutenção. Conseqüentemente, o efeito térmico do exercício, engloba de 15 a 30% do dispêndio energético total, dependendo da intensidade e duração. Já o efeito

térmico dos alimentos contribui com 10% do gasto energético total (41). Desta forma, se o controle do peso corporal for realizado por meio de exercícios físicos, este irá propiciar a elevação da TMB, que pode perdurar de três horas a três dias, dependendo do tipo, intensidade e duração do exercício.

A prática de exercícios físicos propicia benefícios para a saúde em geral e atua no controle biológico e bioquímico do organismo com a finalidade de balancear o gasto energético em relação ao consumo alimentar e controlar moléculas que atuam no perfil bioquímico do indivíduo. Em relação ao perfil glicêmico, o exercício físico é um meio que otimiza a captação de glicose. Esse processo acontece quando, na presença de exercício físico e consequente aumento de cálcio intracelular, o receptor de glicose, localizado no músculo esquelético (GLUT 4), migra para a membrana das células musculares captando a glicose para o meio intracelular. Essa ação potencializa a captação de glicose, reduzindo seus níveis basais (43) (44). A insulina deixa de agir nesse caso, pois com o aumento do estresse gerado a partir da realização de exercício desencadeia-se a liberação do hormônio glucagon que possui ações antagônicas às da insulina. Além do mais, a ação do SNS e das catecolaminas, cuja concentração é aumentada durante o exercício, fazem baixar os níveis insulinêmicos, diminuir a glicemia e estimular a lipólise no tecido adiposo. Dessa forma, o exercício físico é um potente ativador do SNS, promovendo a redução dos estoques de gordura tecidual e evitando o aumento do peso corporal (45, 46).

Um melhor controle da atividade física é medido a partir da intensidade do exercício, que determina a contribuição de substratos como fonte energética durante o exercício. Para a queima de gordura, o exercício moderado é o mais indicado. Os substratos nele envolvidos são os ácidos graxos livres plasmáticos, glicogênio muscular, triglicerídeos musculares e glicose plasmática (41). O exercício aeróbico é caracterizado por utilizar entre 50 e 75% do consumo de  $VO_{2max}$  total que o organismo gasta durante a realização do exercício. No início do exercício, até 15 minutos, predomina-se a utilização de carboidratos como fonte energética. A partir dos 30 minutos de realização do exercício físico, ocorre um desvio no qual, diminui-se a fonte de carboidrato e começa-se a utilizar a gordura, como substrato energético.



A utilização de gordura durante a realização do exercício físico acontece por um processo conhecido por lipólise. Neste processo, os triglicerídeos são degradados em ácidos graxos livres e glicerol, por enzimas conhecidas como lipoproteínas lipases (LPL). Estes ácidos graxos são transportados até as células musculares, mobilizados os estoques intramusculares de triglicerídeos e transportados para o interior das mitocôndrias para por fim serem utilizados como fonte energética (47). No entanto é necessário um estímulo para iniciar este processo de lipólise e ativar as lipases. Durante a realização do exercício físico, há um estímulo do sistema nervoso simpático e aumento de hormônios estimuladores (adrenalina, noradrenalina e glucagon) que são responsáveis por ativar as lipases e assim, aumentar os processos de lipólise. No entanto, quando este exercício físico passa a ser extenuante, e aumenta-se a quantidade de ácido láctico e insulina na corrente sanguínea, há um bloqueio das lipases e impedimento da lipólise (41).

A utilização da gordura como fonte energética, depende ainda do tipo de exercício e intensidade realizada. Exercícios leves a moderados, realizados na faixa de 25 a 65% do  $VO_2$ máx estimulam um aumento de 5 a 10 vezes na oxidação de lipídios (48). Romijn et al., realizaram um estudo no qual, apontaram que exercícios realizados em intensidades baixas (25% $VO_2$ máx), utilizam menores quantidades de gordura como fonte energética, comparado aos exercícios físicos moderados (65% $VO_2$ máx). Quando o exercício passa a ter intensidade alta (85% $VO_2$ máx) este também passa a consumir menos quantidade de gordura (49). Entende-se que há uma intensidade no qual ocorram maiores taxas de oxidação de gorduras, sugerindo que esta seja em exercícios moderados, e depende também de fatores individuais como: sexo, estado de treinamento,  $VO_2$ máx e dieta (50, 51).

### **3.4 Hipertensão, dieta com alto teor de gordura e exercício físico.**

As doenças cardiovasculares, muitas vezes decorrentes do excesso de tecido adiposo, é a principal causa de morbidade e mortalidade na sociedade moderna (52). A hipertensão vem sendo associada com outras doenças como: doença coronariana, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca (53). A prevalência de hipertensão se aproxima a 50% em todo o mundo e é conhecida como uma doença constituinte da

síndrome metabólica (54) (55). Classifica-se hipertenso, o indivíduo que apresenta pressão arterial sistólica (PAS) maior ou igual a 130 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) maior ou igual a 85mmHg (54).

Alguns fatores, além da obesidade, agravam este risco. A alimentação e o nível de atividade física são fatores primordiais que propiciam rápido desenvolvimento de doenças cardíacas. Mente, A.K.L. et al., (2009) afirmam que o consumo de dietas contendo alta quantidade de gordura saturada, propicia um aumento da quantidade de colesterol sanguíneo, o que leva posteriormente ao desenvolvimento de doenças cardíacas (13). Alguns estudos apontam que o consumo de um alto teor de gordura ou açúcar em humanos e animais reduz a dilatação dependente do endotélio (14) (15) (16). Adicionalmente, estudos mostram uma hipertensão relacionada a estas condições.

A vasoconstrição relacionada a hipertensão, pode ser decorrente de uma disfunção renal ou distúrbio da regulação do SNA pelo SNC, principalmente o hipotálamo (56). Sabe-se que o hipotálamo é conhecido como o centro de controle da fome e saciedade (57, 58). Além disso, é responsável por controlar a pressão arterial e atividade renal (57, 59). O SNA exerce um duplo efeito sobre o organismo em geral. Enquanto, no desenvolvimento da obesidade a atividade do SNS está baixa, nos rins e na vasculatura do musculo esquelético, as descargas de noradrenalina nas sinapses simpáticas estão aumentadas e no coração o tônus simpático apresenta-se diminuído (60). Nervos simpáticos periféricos liberaram NPY em resposta ao estresse (61) que pode se manifestar como um aumento da atividade do SNS basal. Além disso, a NPY pode contribuir para o aumento de tecido adiposo branco, pois, provoca a proliferação dos pré-adipócitos (62). A NPY também pode agir sobre a vascularização periférica e promover aterosclerose (63).

Estudos mostram que o consumo de dieta rica em gordura, em curto prazo, pode levar ao desenvolvimento de hipertensão resultante da obesidade e concentrações plasmáticas de noradrenalina (56). O mecanismo sugerido pelos autores, aponta o hipotálamo como centro para a geração da hipertensão relacionada a obesidade e que esta hipertensão pode ser desenvolvida, devido ao aumento da secreção de leptina pelo tecido adiposo branco que ativa receptores centrais e aumenta o tônus simpático para os rins. Samuelsson et al. mostraram que a prole de camundongos C57BL/6

alimentados com uma dieta obesogênica na gravidez e amamentação possuem uma quantidade elevada de noradrenalina renal, consistente com o aumento da atividade do SNS renal (64).

Em meio a este distúrbio, o exercício físico tem sido considerado um potente fator para reduzir o risco de doenças cardiovasculares, reduzir a pressão sanguínea e diminuir a prevalência de hipertensão, dentre outras doenças crônicas (17) (65). Além disso, o exercício melhora a sensibilidade do barorreflexo em indivíduos hipertensos (66). O treinamento aeróbico, ainda, aumenta o débito cardíaco em repouso e a densidade dos capilares sanguíneos (67). Um estudo realizado por Maeda, S. et al., (2004) aponta que um treinamento aeróbico com duração de 3 meses, intensidade leve/moderada ( $50\%VO_{2máx}$ ), 5 vezes na semana, por 30 minutos a sessão, teve como efeito diminuir a pressão arterial em mulheres idosas (59-69 anos), sedentárias e normotensas (68).

Em animais, a prática de exercício físico, também é eficiente para um tratamento não farmacológico ou até mesmo preventivo em relação a doenças cardiovasculares. O exercício físico caracteriza-se por uma situação que influencia na homeostase energética. Para suprir o aumento da demanda metabólica, várias adaptações fisiológicas são necessárias, dentre elas, a função cardiovascular (19). Durante o exercício físico aeróbico, observa-se elevada atividade nervosa simpática e consequente aumento da frequência cardíaca, volume sistólico e débito cardíaco (69). A frequência cardíaca e pressão arterial sistólica e diastólica são os principais parâmetros cardiovasculares que se adaptam ao treinamento físico (70).

Ao mencionar a frequência cardíaca, vale ressaltar que a bradicardia em repouso, pós-exercício é considerado um eficiente marcador do efeito do treinamento físico aeróbico (18). Esta é caracterizada pela redução da pressão arterial no período de recuperação do exercício físico. No entanto, para que essa hipotensão tenha importância clínica, ou seja, tenha sido desenvolvida pela prática de exercício físico é necessário que perdure pela maior parte das 24 horas subsequentes a finalização do exercício (19) (20). Medeiros, et al., (2000) realizaram um estudo experimental utilizando ratos Wistar normotensos, que foram submetidos ao treinamento de natação por 8 semanas, 5 vezes na semana, 60 minutos por dia e chegaram a conclusão que

houve uma diminuição de 10% na frequência cardíaca em repouso (70). Martins-Pinge et al., (2005) encontraram semelhantes resultados nos quais ratos Wistar que realizaram natação por 4 semanas, também tiveram pressão arterial diminuída (71). Além da hipotensão em repouso, um estudo desenvolvido por Park et al., (2012) mostra que a execução de corrida em roda, voluntária, por camundongos C57/BL6 protegeu as artérias coronárias contra a resistência desenvolvida por alimentação rica em gordura (72). Este tipo de exercício melhora a rigidez na artéria carótida em animais idosos que consomem dieta rica em gordura e impede o impacto negativo desta dieta sobre a função endotelial (21).

### **3.5 Exercício físico e sistema nervoso central**

Inúmeras proteínas e citocinas são estimuladas periféricamente e agem diretamente no Sistema Nervoso Central (SNC). Estas podem provocar mudanças provisórias e permanentes no funcionamento do organismo. Estes estímulos podem ser relacionados ao stress físico, stress ambiental, medicações dentre outros. Desta forma, é importante entender o papel de algumas proteínas e citocinas, que participam desta ligação (exercício e SNC).

O hipotálamo, centro mediador do controle energético corporal e ingestão alimentar, está envolvido na regulação de vários fatores como: temperatura corpórea, pressão arterial, fome, sede e proliferação e diferenciação celular (22). O hipotálamo é dividido em duas grandes populações de neurônios, NPY/AgRP e POMC/CART. O primeiro recebe sinais periféricos que mandam informações para aumentar a ingestão alimentar e diminuir o gasto energético. Já o segundo, tem ações contrárias, estimulam a saciedade e aumentam o gasto energético (73) (74). Quando analisado em camundongos, a ausência dos peptídeos derivados do POMC/CART leva ao desenvolvimento de hiperfagia e obesidade, e a ausência de NPY/AgRP, leva a diminuição ou inibição da ingestão alimentar (75). Algumas proteínas e hormônios atuam sobre estes receptores e estimulam uma cascata de sinalização com o objetivo de gerar uma resposta periférica.

A leptina é um hormônio que age diretamente no núcleo arqueado do hipotálamo. Sua produção deriva-se principalmente do tecido adiposo branco e é proporcional a quantidade de tecido (32) (76). Tem como função, atuar em células do núcleo arqueado hipotalâmico, estimulando a expressão dos neuropeptídeos POMC/CART, que se liga a mecanismos de inibição da ingestão alimentar e gasto energético (35) (11) (34). No entanto, quando há falhas na ação da leptina sobre os receptores localizados no hipotálamo, ocorre um processo denominado resistência a leptina, ou seja, esta não consegue atuar centralmente e perde sua capacidade regulatória (77) (78).

Em roedores induzidos a obesidade por meio da dieta rica em gordura, há uma falha nos sítios de ligação da leptina no hipotálamo, o qual não consegue ativar as vias anorexigênicas. Desta forma desenvolvem hiperleptinemia e descontrole da ingestão alimentar que reflete diretamente no peso corporal (79).

Desta forma, o exercício físico é um meio que tem o potencial de controlar a produção e ação do hormônio leptina. Sabe-se que exercício de endurance de intensidade moderada influencia no equilíbrio energético corporal (80). Além disso, um estudo realizado por Jiexiu Zhao, (2011) mostrou que nove semanas de exercício de endurance aumentou a expressão e cascatas de sinalização de receptores de leptina (Ob-Rb) no hipotálamo e diminuiu a concentração de leptina circulante, quando comparado com o grupo sedentário. O exercício foi associado com os efeitos da leptina sobre a atividade das vias AMPK/mTOR no hipotálamo, o que pode aumentar sua capacidade de reduzir a ingestão alimentar (81).

Assim como a leptina, o hormônio insulina é considerado um marcador da obesidade. Produzida e secretada pelas células beta-pancreáticas, a insulina encontra-se elevada em indivíduos obesos e sua concentração é proporcional a adiposidade. Um estudo realizado por Morton, et. al., (2001) aponta que a insulina tem função essencial no sistema nervoso central para incitar a saciedade, ela atua estimulando os mesmos grupos neuronais que a leptina, no entanto, sua ação de aumentar o gasto energético e incitar a saciedade, acontece em curto prazo (73). Quando há uma desregulação deste hormônio, o indivíduo torna-se propenso a desenvolver quadros de obesidade e doenças advindas a ela. Isso acontece pelo maior acúmulo de glicose em forma de

triglicerídeos nos adipócitos e pela inativação do receptor de insulina no SNC, resultando no aumento da ingestão calórica e consequente acúmulo de gordura e propensão a ganhar peso por meio da dieta (82).

Um aumento da ação da leptina e insulina no cérebro podem contribuir para modular a homeostase energética em ratos exercitados. Uma estratégia terapêutica para restaurar a transdução de sinal da leptina e insulina no hipotálamo de obesos é o exercício físico que pode atuar no hipotálamo amenizando o apetite (83). Por outro lado, a ingestão de dieta rica em gordura estimula o desenvolvimento de resistência à insulina e desregulação da secreção, com isso contribui para o desenvolvimento de obesidade e DM2. (84) (85). Um recente estudo desenvolvido por Gomes et al., confirma estes achados, apontando que animais que consumiram DH por 10 semanas, mostram-se resistentes a insulina e hiperinsulinêmicos (8).

Além destes estímulos periféricos ativados pela realização do exercício físico, ele também atua sobre outras populações de neurônios localizadas no cérebro. O exercício físico parece exercer papel central neuroprotetor no hipocampo, o qual estimula a neurogênese (86). Esta começa a aumentar três dias após a realização do exercício, no entanto o pico acontece após o sétimo dia. O mecanismo pelo qual a neurogênese é ativada, acontece quando o exercício físico aumenta o RNAm de uma molécula conhecida como fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) que tem por função promover a sobrevivência e regeneração de neurônios (87) (88). Estudos mostram que mudanças no RNAm do BDNF em ratos, foram mantidas varias semanas após a realização do exercício físico (89) (90).

Estudos apontam que a ingestão de dietas ricas em gordura, afeta a função cerebral e causa desregulações que propiciam o desenvolvimento de obesidade. Levin, (1999), apontam que este tipo de alimentação influencia no aumento da expressão de neuropeptídeos anabólicos, os NPY, responsáveis por estimular a ingestão alimentar. Desta forma, conforme se aumenta a quantidade de gordura presente na dieta, aumentam-se os referidos neuropeptídeos, e, assim, propicia um possível desenvolvimento de comordidades, devido a esta desregulação (36). Além disso, há uma falha no desempenho de tarefas cognitivas que utilizam o hipocampo e córtex frontal. Esta falha está relacionada à quantidade de ácidos graxos saturados presentes

na dieta (91). Os mecanismos que levam a esta falha cognitiva, não estão esclarecidos, no entanto, Muller et al., apontam que a hiperglicemia e a intolerância a glicose, desenvolvidas a partir da ingestão de dieta hiperlipídica (DH) podem ser um fator contribuinte para este desenvolvimento (92).

## **4 MÉTODOS**

### **4.1 Amostra**

Utilizaram-se para este estudo, ratos Wistar machos, com 60 dias de idade, que foram transferidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá para o Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção. Posteriormente os animais passaram por um período de 5-10 dias de adaptação e foram colocados em caixas separadas, cada uma delas abrigando um numero de três animais. Durante todo o período, os ratos receberam água e ração à vontade e estavam submetidos a um ciclo fotoperiódico de 12 h (07:00-19:00 h) e temperatura constante de  $22\pm 2$  °C. A ração comercial (Nuvital-Curitiba) foi usada para tratar os animais controle, e a dieta rica em gordura para os animais DH. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle sedentário (NFD-SED), Dieta sedentário (HFD-SED), Controle exercitado (NFD-EXE) e Dieta exercitado (HFD-EXE). O exercício foi realizado dos 60 aos 90 dias de idade, e, posteriormente, oferecida a dieta dos 90 aos 120 dias. Conforme a figura 1, abaixo.

<b>NFD-SED</b>	<b>Sedentário+DC</b>	<b>Sedentário+DC</b>
<b>HFD-SED</b>	<b>Sedentário+DC</b>	<b>Sedentário+DH</b>
<b>NFD-EXE</b>	<b>Exercitado+DC</b>	<b>Sedentário+DC</b>

**Figura 1 – Esquema dos grupos experimentais.**

#### **4.2 Dieta e Exercício Físico**

A dieta hiperlipídica foi produzida no laboratório de biologia celular da secreção (LBCS) e continha alta quantidade de gordura (35% de gordura de porco) (93), que foi ofertado por 30 dias (90 aos 120 dias de vida) a vontade. A tabela 1 aponta os ingredientes utilizados para a fabricação da dieta hiperlipídica. A ração padrão oferecida foi a comercial (Nuvital-Curitiba) cujos ingredientes encontram-se, também na tabela 1. Todos os animais foram pesados e consumo de ração avaliado a cada dois dias até atingirem os 120 dias de vida.

**Tabela 1 – Composição da ração padrão e Dieta Hiperlipidica (DH).**



<b>Ingredientes (gramas)</b>	<b>AIN 93 M - Ração padrão (1000 g de ração)</b>	<b>Hiperlipídica (35% de gordura de porco)</b>
Amido (Q.S.P.)	465,7	115,5
Caseína	140,0	200,0
Amido de Milho Dextrinizado	155,0	132,0
Sacarose	100,0	100,0
Óleo de Soja	40,0	40,0
Banha	0,0	312,0
Celulose microfina (fibra)	50,0	50,0
Mix de Minerais	35,0	35,0
Mix de Vitaminas	10,0	10,0
L-Cistina	1,8	3,0
Bitartarato de Colina	2,5	2,5
Somatório total (g)	1000,0	1000,0

O programa de exercício foi construído a partir do protocolo proposto por Negrão et.al., (1992). Dessa forma, pretendeu-se garantir a mesma intensidade de exercício, em regime aeróbio, em todas as fases do exercício por 30 dias. No decorrer do protocolo, aumentava-se a carga (de 10m/min até 16m/min) e o tempo da sessão de exercício (de 10min até 60min), para certificar que os animais estariam na faixa de VO<sub>2</sub>máx aeróbico. Para garantir que a intensidade do exercício, foi realizado um teste de esforço máximo, no qual a partir do V<sub>pico</sub>, ou esforço máximo realizado, foi verificado se as velocidades propostas pela adaptação do protocolo de Negrão, se encaixavam nos níveis aeróbicos.

Os ratos do grupo exercitado foram submetidos a exercícios em uma esteira rolante para ratos modelo ET-2000 Insight<sup>®</sup> (Ribeirão Preto, SP). Esta tem um controle

eletrônico de velocidade e é dividida em seis baias fechadas na parte superior por tampa de acrílico removível (para entrada e retirada dos animais), contendo orifícios para permitir a ventilação. Como estímulo para que os animais não parassem de correr, já que a esteira não possuía o sistema de choque, foi utilizado 1 bola de plástico por baia, com tamanho aproximado de 10cm. Desta forma, no momento em que o objeto encostava-se no animal, ele corria para o final da esteira permanecendo em constante movimento. O exercício foi aplicado sempre no período da manhã, três vezes por semana. Foram descartados os animais que não conseguiram se adaptar ao exercício e não realizaram três sessões consecutivas. O treinamento foi dividido conforme mostra a figura 2.

<b>Tempo (min)</b>	10	20	20	30	40	40	40	50	50	55	60	60	
<b>Velocidade (m.min<sup>-1</sup>)</b>	10	10	10	10	12	12	12	14	14	14	16	16	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	<b>Sessões de Treinamento</b>												

Figura 2 – Programa de exercício, dos 60 aos 90 dias de idade.

## 4.2 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS

### 4.2.1 Teste de tolerância à glicose (lvGTT)

Os animais foram anestesiados com Ketamina e Xilazina (0,1ml/100g peso corporal) e submetidos a uma cirurgia para a implantação de uma cânula de silicone na veia jugular direita. Após a cirurgia e após 12 horas de jejum, deu-se início ao teste. Uma amostra de sangue foi coletada (0,400 ml) através da cânula e logo em seguida, foi injetado, via cânula, uma carga de glicose correspondente a 1g/Kg de peso corporal e retirado sangue após 5, 15, 30 e 45 minutos da infusão de glicose. O sangue foi

centrifugado e o plasma usado para dosagens de glicemia por meio da técnica da glicose-oxidase (Kit-Bio Diagnostic Chemistry Industry).

#### **4.2.2 Registro de pressão arterial**

Para o registro da pressão arterial foi utilizado um grupo separado de animais, que foram submetidos à anestesia com tiopental sódico (45mg/1000g de peso animal). A cirurgia consistiu na implantação de uma cânula de polietileno (PE 10 conectada a PE 50) na aorta abdominal que foi inserida através da artéria femoral. Heparina (10%, 0,1 ml) foi utilizada para evitar a formação de coágulo na ponta da cânula. Com os animais ainda adormecidos, esta cânula foi conectada a um transdutor (MT0699-BP Transducer ADInstruments-New Zealand) ligado a um amplificador de sinal que este por sua vez estava conectado a um conversor analógico digital (PowerLab/400 ADInstruments, Austrália) com frequência de 2000 Hz por canal. Os dados foram arquivados e analisados por meio do programa WinDaq (DATAQ instruments-USA) para posteriores análises. Os registros foram realizados durante 30 minutos.

#### **4.2.3 Registro elétrico do nervo simpático e parassimpático**

Após jejum de 10 horas, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (45mg/1000g de peso animal), e submetidos a uma incisão cirúrgica longitudinal na face anterior cervical, para possibilitar a dissecação do ramo superior vagal direito. Após o nervo ser isolado, o animal foi colocado em uma gaiola de Faraday para evitar interferências eletromagnéticas externas que pudessem alterar os registros elétricos. Com o auxílio de um fio de algodão transpassado sob o nervo, o filamento neural isolado foi assentado sobre um par de eletrodos de prata (0,6mm) e conectado a um sistema eletrônico que transforma o sinal elétrico em sinal sonoro. O sinal foi filtrado

para excluir ruídos abaixo de 1KHz e acima de 80KHz, e foi amplificado 10.mil vezes.

Após encerrado o registro da atividade elétrica do nervo vago, com o animal ainda anestesiado, foi realizada uma laparotomia e localizado um ramo do nervo simpático localizado na região esplâncnica com origem no plexo lombar na região de L2, que se estende até o tecido adiposo retroperitoneal; a dissecação e o registro da atividade elétrica do nervo foram realizados como descrito para o nervo vago. Os registros foram convertidos para sistema digital e armazenados em arquivos eletrônicos (Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) para posterior análise. Após dois minutos iniciais, o registro da atividade do nervo foi tomado por dez minutos. Aleatoriamente foi escolhido de cada registro/animal de 5 a 7 setores com 15 segundos para a contagem de espículas de mV que superavam o zero. Os resultados da atividade elétrica do nervo foram expressos em número de espículas por 5 segundos (spikes/5s).

#### **4.2.4 Avaliação da obesidade**

Após o registro elétrico, os animais foram sacrificados e as gorduras retroperitoneal, periepididimal e visceral foram retiradas e pesadas. O percentual dessas gorduras, em relação ao peso total dos animais foi usado como estimativa do acúmulo de gordura total. Ainda, foi aferido o peso corporal em gramas e o Comprimento Nasoanal (CNA) em centímetros, para calcular o índice de Lee  $[\text{Peso(g)}^{1/3} \div \text{CNA(cm)} \times 1000]$  utilizado como estimativa de sobrepeso.

#### **4.2.5 Aspectos éticos**

Todos os protocolos experimentais foram realizados devidamente de acordo, com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). E aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação, da Universidade estadual de Maringá – CEAE/UEM Protocolo n. 028/2009.

### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram analisados no programa estatístico GraphPad Prism 6, versão 6.1, e as estatísticas foram realizadas contendo a média seguida do erro padrão das médias, teste T student ou ANOVA two-way seguida de pós teste de Tukey. Significância foi considerada com  $P < 0,05$ .

# 5 RESULTADOS

---

---

## 1- Dados biométricos

A tabela 2 aponta dados referentes a medidas biométricas de todos os grupos experimentais estudados (NFD-SED, NFD-EXE, HFD-SED e HFD-EXE) aos 120 dias. Em relação ao comprimento naso-anal, não houve diferença estatística entre os grupos. Ao realizar o cálculo de índice de Lee, verificou-se que o valor encontrado no grupo HFD-SED mostrou-se maior no grupo NFD-SED. O consumo de ração foi aferido semanalmente. Os dados da tabela 1 mostram o consumo no final de cada fase à que os animais foram submetidos, ou seja, no final do protocolo de exercício físico (90 dias) e no final do consumo de DH (120 dias).

Aos 90 dias, todos os animais mantiveram uma alimentação parecida, não houve diferença estatística entre os grupos. Dos 90 aos 120 dias, os animais que receberam dieta hiperlipídica, comeram menos comparado aos que receberam ração comercial. E, neste período o grupo NFD-EXE ingeriu mais ração comparado com o NFD-SED. Ao realizar a AUC de todo período experimental, conclui-se que os animais HFD ingeriram menos ração que animais NFD.

Em relação ao peso corporal, aos 60 dias, foi parecido em todos os grupos estudados. Após as sessões de exercício físico, aos 90 dias, o peso corporal destes animais continuava parecido. Ao analisar aos 120 dias, no final do protocolo experimental, nota-se que os animais HFD-SED apresentaram maior peso corporal que HFD-EXE e NFD-EXE.

Tabela 2- Dados biométricos de animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial e ração hiperlipídica.

	NFD-SED	HFD-SED	NFD-EXE	HFD-EXE
Índice de Lee	0,32±0,002	0,34±0,004*	0,33±0,004	0,33±0,004
AUC- CS	186,9±1,77	169,3±2,59*	197,2±4,24	168,3±3,67 <sup>+</sup>
CS (90 dias)	80,17±0,92	85,27±1,51	84,56±3,34	84,54±1,35
CS (90 aos 120 dias)	80,20±0,98	58,84±2,06*	84,99±3,62*	56,59±1,45 <sup>+</sup>
Peso Corporal (60 dias)	258,1±4,85	266,9±2,90	272,5±3,66	264,9±3,02
Peso Corporal (90 dias)	348,8±3,73	362,2±3,31	358,6±4,80	347,8±3,21
Peso Corporal (120 dias)	418,2±5,43	496,8±7,72*	431,3±6,66	464,9±6,82 <sup>#</sup>

Media e erro padrão da média - AUC- área sob a curva – CS- Consumo de ração

\* # +: Representam diferença estatística entre os grupos, sendo \* (NFD-SED), # (HFD-SED), + (NFD-EXE).

A figura 3 mostra a curva do consumo de ração dos quatro grupos experimentais estudados (NFD-SED, HFD-SED, NFD-EXE e HFD-EXE) durante todo o período de tratamento (60 aos 120 dias de idade, 1<sup>a</sup> a 8<sup>a</sup> semana, respectivamente). Nota-se, que até a quarta semana, na qual todos os grupos consumiam ração comercial, não houve diferença significativa na ingestão alimentar. A partir da quarta semana, quando os animais HFD-SED e HFD-EXE começaram a receber a DH, houve uma diminuição no consumo de ração, comparado aos grupos NFD-SED e NFD-EXE.

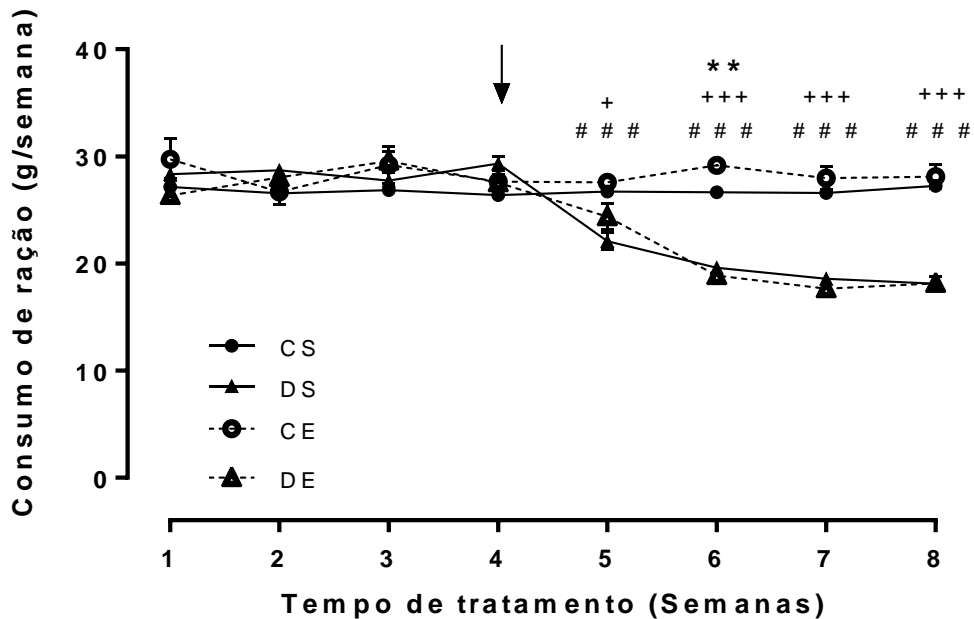
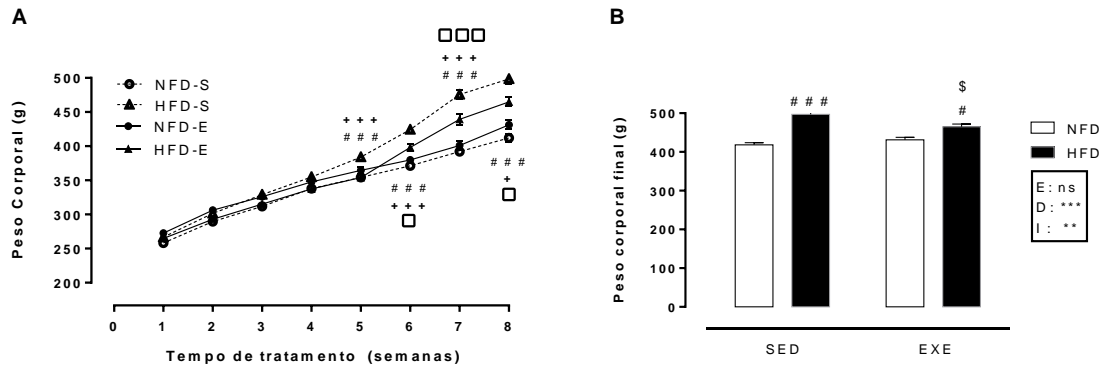


Figura 3- Curva do consumo de ração comercial e hiperlipídica (gramas/semana) de grupos sedentários e exercitados. A seta indica o momento em que foi inicializado a transição de DC para DH. # # # indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e HFD-SED. + indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. \*\* indica diferença estatística ( $P < 0,01$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. Anova two-way, pós teste de Tukey.

A figura 4 painel A, mostra a curva da evolução do peso corporal, dos quatro grupos experimentais estudados (NFD-SED, HFD-SED, NFD-EXE e HFD-EXE) durante todo o período experimental (60 aos 120 dias de idade, 1ª a 8ª semana, respectivamente). Verifica-se que a partir da quinta semana os animais HFD-SED apresentaram maior peso corporal que os animais HFD-EXE e NFD-SED. A partir da sexta semana os animais HFD-EXE apresentaram maior peso que os NFD-EXE. No painel B observa-se o peso corporal final que resultou no aumento do peso corporal de animais HFD-SED e HFD-EXE comparado aos NFD-SED e NFD-EXE (15,81% e 7,25%) respectivamente. E, diminuição do peso corporal dos animais HFD-EXE em relação aos HFD-SED (6,41%).





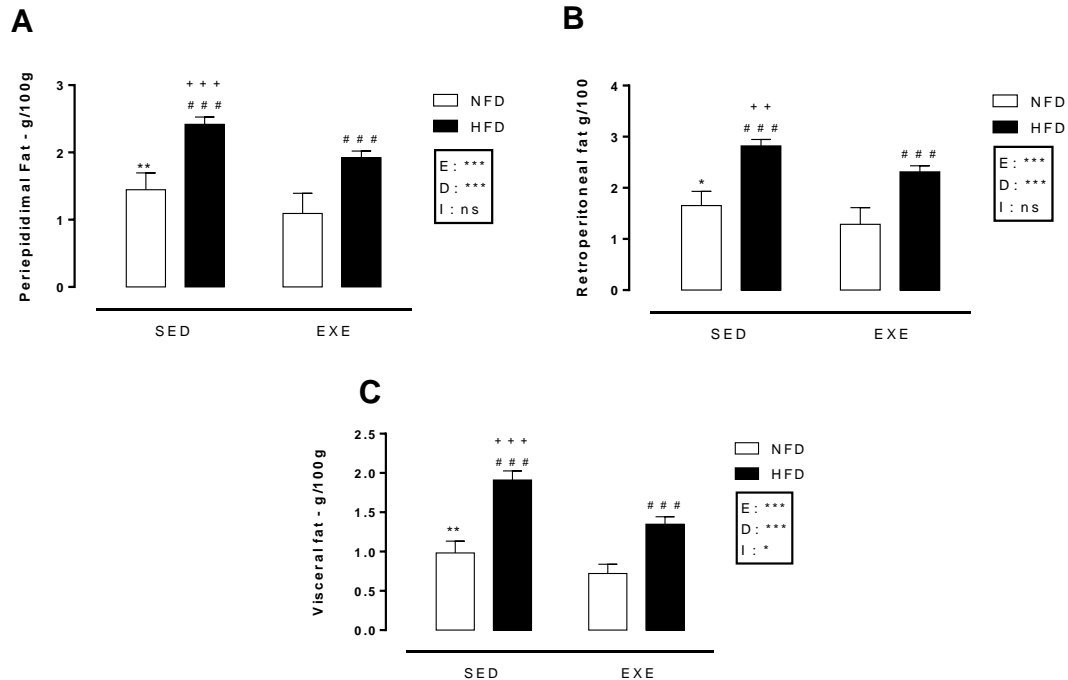
**Figura 4- Painel A: Curva do peso corporal (g) de grupos sedentários e exercitados, que consumiram ração padrão e hiperlipídica, dos 60 aos 120 dias. # # # indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e HFD-SED. + indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. □ indica diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e □□□ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-EXE e HFD-EXE. Painel B: Peso corporal final aos 120 dias. # indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos que consumiram DH em relação aos seus controles que consumiram ração comercial. \$ indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos DH sedentário e exercitado.**

## 2- Gordura corporal

A fim de verificar o efeito agudo do exercício físico sobre os depósitos de gordura corporal, dois grupos de animais (NFD-SED e NFD-EXE) foram sacrificados aos 90 dias, ou seja, logo após o período de realização do exercício físico. O grupo NFD-SED apresentou-se com maior acúmulo em todas estas gorduras e apresentou uma média de redução de 16,44%. Ao comparar estes dois grupos que foram sacrificados com 90 dias, aos mesmos grupos sacrificados aos 120 dias, observou-se um aumento natural da gordura corporal em animais NFD-SED (17,68%). No entanto, não houve este aumento nos animais que realizaram exercício físico (NFD-EXE) no qual aos 120 dias apresentaram a mesma quantidade de gordura que tinham aos 90 dias.

Observa-se na figura 5, em relação às gorduras periepídimal (painel A), retroperitoneal (painel B) e visceral (painel C), que o grupo DS acumulou mais gordura, comparando aos demais grupos. Em média aumentou 43,41% em relação ao CS. Nota-se que em ambos os grupos exercitados (NFD-EXE e HFD-EXE) houve uma redução significativa nos referidos estoques de gordura. Comparando com seu controle (NFD-SED), o grupo NFD-EXE teve uma redução média de estoques de gordura corporal de

24,42%. Já o grupo HFD-EXE comparado ao seu controle (HFD-SED) reduziu em média 22,66%.



**Figura 5- Gordura relativa. Gordura periepididimal (painel A), gordura retroperitoneal (painel B) e gordura visceral (painel C). # # # Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos que consumiram DH em relação aos seus controles que consumiram ração comercial. ++ Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) e +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. \* Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) e \*\* ( $p < 0,01$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. ANOVA two way, pós teste de Tukey.**

### 3- Controle glicêmico

A fim de verificar o efeito agudo do exercício físico sobre a glicemia basal, dois grupos de animais (NFD-SED e NFD-EXE) foram sacrificados aos 90 dias, ou seja, logo após o período de realização do exercício físico. A tabela 3 mostra que os não houve diferença estatística entre os grupos aos 90 dias. Ao comparar estes grupos com os mesmos aos 120 dias, observou-se que também não houve diferença estatística entre os grupos. Aos 120 dias, os animais HFD-SED apresentaram maior glicemia basal e insulinemia basal que os animais NFD-SED e HFD-EXE, sendo que o HFD-EXE manteve a glicemia e insulinemia parecida com a do grupo NFD-SED e EXE.

**Tabela 3- Dados bioquímicos de animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial e ração hiperlipídica.**

	NFD-SED	HFD-SED	NFD-EXE	HFD-EXE
Glicemia em Jejum - 90 dias	102,5±1,89	-	100,4±8,29	-
Glicemia em jejum- 120 dias	95,81±1,86	106,2±2,02*	95,3±2,14	95,25±2,83 <sup>#</sup>
Insulina em jejum- 90 dias				
Insulina em jejum- 120 dias	0,09±0,01	0,29±0,43*	0,07±0,02	0,06±0,01 <sup>#</sup>

Media e erro padrão da média - AUC- área sob a curva

\* #: Representam diferença estatística entre os grupos, sendo \* (NFD-SED), # (HFD-SED).

Observou-se na figura 6 que a curva glicêmica do grupo HFD-SED se manteve acima dos demais grupos (NFD-SED, NFD-EXE e HFD-EXE), do tempo 0 ao tempo 30 (MIN.). Em relação aos valores referentes à glicemia basal, pico e recuperação glicêmica durante o teste (tempos: 0, 5 e 30 min), o grupo HFD-SED mostrou-se com valores maiores que o grupo NFD-SED (9,80%, 24,83% e 33,41%) e HFD-EXE (12,88%, 12,44% e 27,14%) respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. Na área sob a curva, nota-se que houve interação entre os fatores dieta e exercício físico.

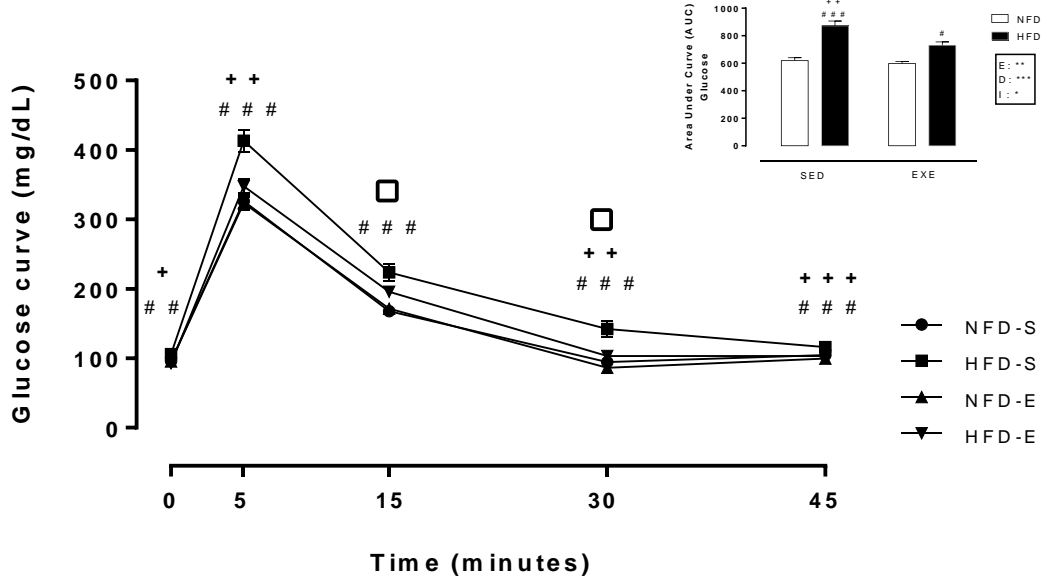
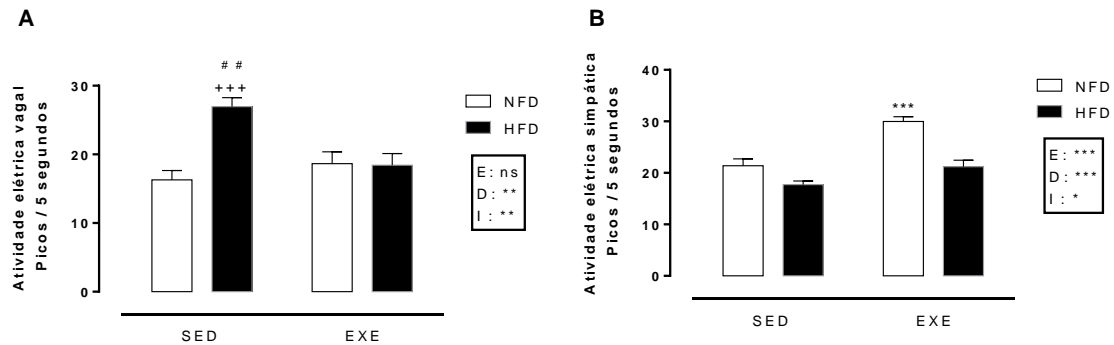


Figura 6- Curva glicêmica durante o teste de tolerância a glicose e área sob a curva de ratos sedentários ou exercitados, tratados com DH ou ração comercial. # # Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e NFD-SED. + Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) ++ ( $p < 0,01$ ) +++ ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. ANOVA two way, pós teste de Tukey.

#### 4- Registro elétrico da atividade vagal e simpática

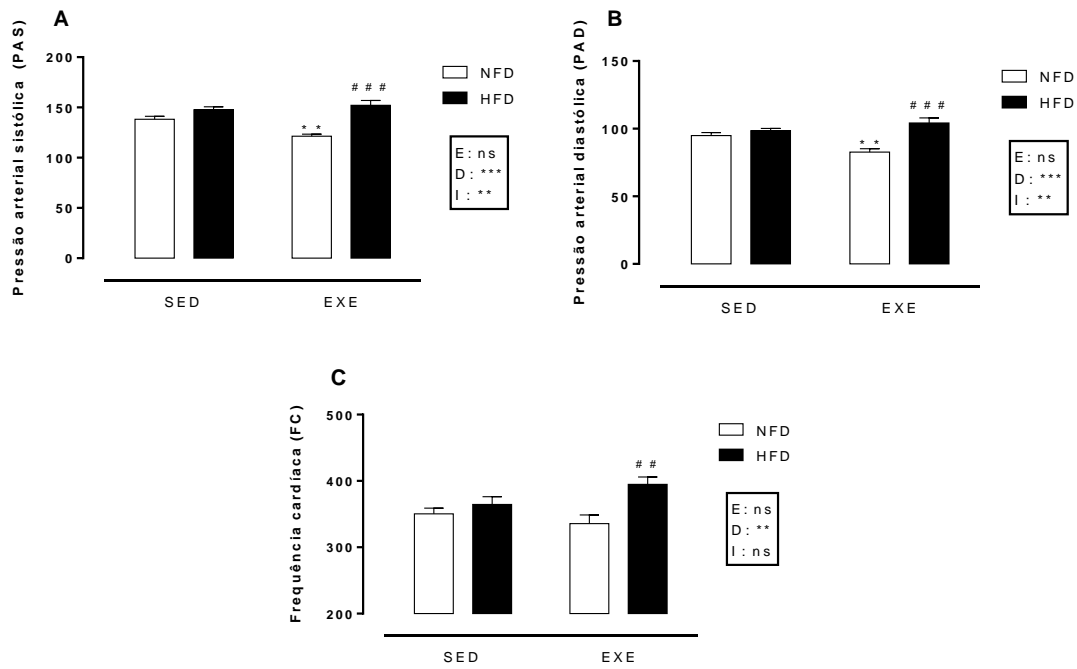
A figura 7 mostra a atividade elétrica aferida do nervo Vago superior (painel A) e nervo simpático esplâncnico maior (painel B). Em relação à atividade vagal, o grupo HFD-SED apresentou um aumento de 31,58 % e 39,53% comparado com HFD-EXE e NFD-SED respectivamente. Em relação à atividade simpática, o grupo NFD-EXE apresentou um aumento da atividade vagal de 28,63% em relação ao seu controle (NFD-SED). Evidencia-se também, porém não estatisticamente diferente, um aumento de 16,41% da atividade simpática do grupo HFD-EXE em relação ao HFD-SED.



**Figura 7-** Registro da atividade elétrica vagal (painel A) e simpática (painel B) dos nervos vago superior e simpático esplâncnico maior. # # Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. + + + Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-SED e HFD-EXE. \*\*\* Indica diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos NFD-SED e NFD-EXE. ANOVA two-way e pós teste de Tukey.

## 5- Pressão arterial

A figura 6 refere-se à aferição da pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca e pressão de pulso, de animais que realizaram ou não exercício físico e que ingeriram ração comercial ou hiperlipídica. O painel A e B referem-se à pressão sistólica e diastólica, nota-se que o grupo HFD-EXE apresentou-se com maior pressão comparado ao NFD-EXE. Em relação a pressão sistólica este aumento foi de 20,21% e a diastólica foi de 20,75%. Nota-se também que o grupo NFD-SED apresentou maiores valores de pressão sistólica e diastólica, comparado ao NFD-EXE, 12,20% e 12,93% respectivamente. Houve interação entre os fatores dieta e exercício em relação a pressão sistólica e diastólica. O painel C mostra os resultados referentes à frequência cardíaca. Nota-se que o grupo NFD-EXE apresentou menor pressão arterial (15,03%) quando comparado ao HFD-EXE. O painel D mostra resultados referentes a pressão de pulso. Observa-se que o grupo NFD-EXE apresentou menor pressão de pulso (13,46%) comparado com o HFD-EXE. Em relação ao painel C e D, não houve interação entre as variáveis, somente a dieta influenciou nos resultados.



**Painel 8 – Registro de pressão arterial sistólica, diastólica, frequência cardíaca e pressão de pulso em animais sedentários e exercitados, que consumiram ração comercial ou hiperlipídica. # Indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ) # # ( $p < 0,01$ ) # # # ( $p < 0,001$ ) entre os grupos HFD-EXE e NFD-EXE. \*\* Indica diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os grupos NFD-EXE e NFD-SED. ANOVA two-way e pós teste de Tukey.**

## 6 DISCUSSÃO

---

---

O presente estudo trás como novidade que o exercício físico, realizado no início da vida adulta, por um curto período de tempo, baixa frequência e intensidade leve/moderada (55%VO<sub>2</sub>máx), foi capaz de impedir algumas características da síndrome metabólica como o aumento de gordura corporal, intolerância a glicose, hiperglicemia e hiperinsulinemia em jejum. Além disso, houve uma diminuição da pressão arterial sistólica e diastólica de animais NFD-EXE em relação ao seu controle sedentário e tendência à diminuição da P.A de animais exercitados obesos e controle. Todos os benefícios deste específico programa de exercício foram associados com uma regulação do SNA. Por outro lado, a dieta hiperlipídica, oferecida após o encerramento do protocolo de exercícios físicos, foi eficaz em desenvolver obesidade em animais sedentários, juntamente com algumas características da síndrome metabólica, como a hiperglicemia e hiperinsulinemia em jejum e tendenciou um aumento da PAS, PAD, FC e PP, juntamente com a maior ativação do tônus parassimpático nestes animais.

Em relação ao consumo alimentar, o exercício físico não alterou o padrão alimentar de animais treinados, comparados a seus controles. Este resultado está de acordo com pesquisas que apontam que o exercício físico não influenciou no padrão alimentar (94) (95). Recentemente foi demonstrado que animais que consomem dieta rica em gordura e realizam exercício físico moderado dos 21 aos 91 dias de vida, mantêm o mesmo consumo alimentar, comparado a seus controles (8). Em outro modelo experimental de obesidade e exercício físico, ratos MSG-obesos que realizaram exercício de natação de baixa intensidade e frequência, não apresentaram diferença na ingestão alimentar, quando comparados com seus controles sedentários (46). No entanto, os animais que ingeriram DH apresentaram um menor consumo desta ração, comparando aos que ingeriram ração comercial. Trabalhos relatam que o acúmulo excessivo de adiposidade em roedores, causado por uma dieta com alto teor em lipídios, não é necessariamente acompanhada de superalimentação (96) (96).

O consumo de lipídios causa uma desregulação no balanço energético, tornando-o positivo. Ou seja, se o consumo de calorias advindas da alimentação foi

maior que o gasto energético, o efeito será de acumular TA. No entanto, em uma alimentação rica em lipídios, o estoque deste é de 96% que é armazenado diretamente em forma de gordura corporal. Dentre todos os outros macronutrientes, os lipídios são os que apresentam a maior densidade energética e a maior capacidade de estoque no organismo (9)

Já em relação ao peso corporal, foi observado que o exercício físico não influenciou na diminuição do peso de animais NFD, mas foi eficiente em proteger o aumento de peso corporal de animais HFD-EXE, comparado aos HFD-SED. Já a DH desenvolveu maior peso corporal em animais sedentários. Em relação ao efeito protetor do exercício físico em animais HFD-EXE, este resultado corrobora com um estudo anterior, no qual animais que realizaram exercício físico e foram alimentados por DH dos 21 aos 91 dias, também mantiveram peso corporal diminuído, quando comparado a seus controles sedentários (8). Talvez o período de realização do exercício físico não tenha sido suficiente para influenciar no peso corporal de animais NFD-EXE.

No entanto, ao observar os depósitos de gordura corporal destes animais, notou-se que a ingestão de DH mesmo em um curto período, foi eficaz em desenvolver um maior acúmulo de gordura corporal em animais sedentários. Este resultado corrobora com vários estudos que apontaram para a eficiência da dieta rica em gordura em induzir um maior acúmulo de gordura corporal e desenvolver obesidade (92, 95, 97). No presente trabalho, animais exercitados que foram alimentados com DH mostraram um menor acúmulo de tecido adiposo, indicando a eficiência do exercício físico em impedir o desenvolvimento e aumento das gorduras corporais (8). Ressalta-se ainda que, ao analisar os depósitos de gorduras corporais aos 90 dias, logo após o término do protocolo de exercício, e aos 120 dias em animais NFD sedentários e exercitados, observou-se que animais sedentários aumentaram a quantidade de gordura corporal. Isto é considerado fisiologicamente normal, já que estes estavam em processo de desenvolvimento etário. Já animais exercitados, permaneceram com a mesma quantidade de gordura corporal quando comparado os 120 dias aos 90 dias. Sugerimos desta forma, que exercício foi eficiente em bloquear o desenvolvimento destes tecidos, mesmo após um tempo de sedentarismo. Trost, (1997) aponta que existe um aumento de 20 a 35% na ação lipolítica, no adipócito, após a realização do



exercício físico, fato que pode ter contribuído para a redução da gordura corporal de animais exercitados (98).

Desta forma, ressalta-se que além da densidade energética, a composição dos macronutrientes da dieta desempenha um papel importante na determinação do tipo e magnitude de respostas metabólicas adaptativas do organismo para a alimentação. **Mandy (2011)** afirma que o organismo prioriza o armazenamento de energia, quando cronicamente expostos a dietas com alto teor de gordura, sendo esta, uma resposta metabólica adaptativa, que pode ocorrer independentemente da quantidade total de energia ingerida. Este modelo de obesidade mostra ser eficiente em desenvolver obesidade na vida adulta (95).

É notável o efeito do protocolo de exercício sobre o acúmulo de gordura corporal, visto que tanto os animais do grupo controle quanto os obesos apresentaram uma redução significativa no acúmulo de gordura corporal. Nossos resultados demonstram que o exercício físico aplicado pode ser considerado como uma atividade física metabolicamente aeróbia, por consumir uma significativa parcela de tecido adiposo como substrato energético. Previamente estes resultados foram observados em roedores programados ou não para a obesidade (34) (95) (46). A atividade física estimula de um modo geral a atividade do sistema nervoso simpático (SNS) e em particular a liberação de catecolaminas pelas glândulas adrenais, o que induz ações lipolíticas mobilizando ácidos graxos do tecido adiposo para serem usados como substrato energético durante o exercício físico (45, 99, 100). Dessa forma, pode-se atribuir a redução no acúmulo de gordura à estimulação do SNS e consequente aumento da lipólise, de animais treinados.

Ainda em relação ao metabolismo, ao verificar os níveis glicêmico e insulinêmico destes animais, observou-se que o exercício físico impediu o desenvolvimento de hiperglicemia e hiperinsulinemia em jejum de animais HFD-EXE, comparado ao seu controle (HFD-SED). Além disso, estes animais exercitados mostraram uma curva glicêmica parecida aos NFD-SED e NFD-EXE. Em relação ao grupo NFD-EXE, não houve influência do exercício nos níveis glicêmicos e insulinêmicos quando comparado ao grupo NFD-SED. Contudo, a DH foi eficaz em desenvolver intolerância a glicose, hiperglicemia e hiperinsulinemia em animais HFD-SED. Alguns estudos mostram que

animais MSG e DH apresentam resistência a insulina (101) (84) (46). Mello et al., 2013 mostrou que animais HFD-EXE são normoglicêmicos e secretam menos insulina que animais HFD-SED, o que pode sugerir uma melhora na sensibilidade a insulina provocada pela realização do exercício físico (8). Em um estudo realizado por Rinaldi, (2007), constatou-se que animais RN sedentários, com idade de 90 dias, também apresentaram intolerância à glicose. Eles apontam ainda que o exercício físico moderado iniciado logo após o desmame (21 dias) desencadeia alterações profundas e que perduram mesmo após o término do exercício físico, o que contribui de forma decisiva para o restabelecimento da glicemia. Vale ressaltar, que no presente estudo o programa de treinamento físico foi realizado antes do tratamento com a DH, fato que mostra que o exercício teve um efeito protetor, programando os animais para serem resistentes ao tratamento com a DH. Possivelmente, houve um aumento de receptores GLUT-4 no tecido muscular esquelético, o que provocou maior captação de glicose e reduziu a glicemia de animais HFD-EXE.

Estes efeitos referentes à realização do exercício físico e ingestão de dieta hiperlipídica podem ser explicados pela indução ao descontrole central e autônomo de animais obesos e a proteção do exercício físico nestes aspectos. Este trabalho pela primeira vez aponta que a realização do exercício físico por somente 30 dias em animais jovens/adultos que posteriormente passaram por um período de destreinamento (30 dias) foi eficiente em aumentar o tônus simpático de animais NFD-EXE comparado ao seu controle (NFD-SED). Houve também uma tendência evidente de aumento do tônus simpático de animais HFD-EXE, comparando a seus controles (HFD-SED). No entanto, o exercício físico bloqueou o aumento da atividade vagal destes animais. Por sua vez, a ingestão de dieta hiperlipídica, por 30 dias na vida adulta, potencializou um grande aumento da atividade vagal de animais HFD-SED, o que explica a apresentação de seu descontrole metabólico. Já em animais exercitados, o consumo de DH não teve efeito sobre a desregulação parassimpática. ----- aponta que a obesidade é caracterizada por um aumento da atividade vagal e estímulo de vias lipogênicas, induzida pela ingestão de dietas ricas em gordura (102). Enquanto o exercício físico caracteriza-se por estimular a ação lipolítica e subsequente a maior ativação simpática, atuando no metabolismo catabólico (103) (46).

Em relação ao sistema cardiovascular, a dieta hiperlipídica aumentou a pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca. Essas modificações na P.A podem ter sido desencadeadas, por meio da ativação do Sistema Nervoso Simpático Renal (SNSR) o que levou a um aumento da retenção de água e sódio e consequente aumento da pressão arterial (104). Prior, 2010 realizaram um estudo, no qual concluíram que a alimentação rica em gordura, a curto prazo, pode resultar em hipertensão que está relacionada a obesidade e aumento de concentrações plasmáticas de noradrenalina (56). Sugere-se neste estudo que o mecanismo envolvido neste aumento de pressão arterial, relaciona-se com o aumento de TA desenvolvido na obesidade e consequente aumento de secreção de leptina que atua no hipotálamo estimulando a maior atividade simpática no rim.

Já o exercício físico, foi eficaz em diminuir o aumento da pressão arterial sistólica e diastólica somente nos animais controle NFD-EXE. Nota-se que animais que realizam exercício físico possuem um aumento na formação de óxido nítrico (NO) o que leva a uma vasodilatação na artéria mesentérica e artéria aorta (105). Isto é ocasionado devido ao estresse hemodinâmico provocado pelo sangue durante o exercício físico. Portanto, há uma melhora no relaxamento vascular devido sua função vasodilatadora (106)(inserir referencia pingue). Nota-se ainda, que o exercício físico influencia diretamente na melhora da ação dos barorreceptores, sendo este um importante sistema que controla as oscilações da P.A através da modulação do SNS e SNP. (107). Medeiros (2000) aponta que um dos principais efeitos do treinamento físico é a diminuição da frequência cardíaca em repouso que é considerado como um marcador da realização do exercício físico (108). No presente trabalho, notou-se que o efeito hipertensor da dieta hiperlipídica não foi afetado pela realização prévia de exercício. Estes resultados sugerem que o presente protocolo de exercício não foi capaz de evitar os efeitos deletérios do excesso de gordura, parcialmente devido a influencia da obesidade sobre mecanismos centrais de regulação da pressão arterial (que implica angiotensina II), notadamente o núcleo paraventricular e núcleos simpáticos do bulbo (56).

## **7 CONCLUSÃO**

---

---

Conclui-se que o exercício físico impediu o aumento de gordura corporal, disfunção glicêmica, insulinêmica e disfunção autonômica. Contudo este protocolo de exercício não foi capaz de evitar o aumento da pressão arterial induzido pela dieta hiperlipídica em animais exercitados, tendo efeito de diminuição de pressão arterial somente em animais controles.

# REFERÊNCIAS

---

---

1. WHO. World health statistics. World Health Organization. 2012.
2. Barker DJ. The developmental origins of well-being. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*. 2004 Sep 29;359(1449):1359-66. PubMed PMID: 15347527. Pubmed Central PMCID: 1693427.
3. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clinical science*. 1998 Aug;95(2):115-28. PubMed PMID: 9680492.
4. de Oliveira JC, Lisboa PC, de Moura EG, Barella LF, Miranda RA, Malta A, et al. Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation. *The Journal of endocrinology*. 2013 Feb;216(2):195-206. PubMed PMID: 23151360.
5. de Oliveira JC, Miranda RA, Barella LF, Torrezan R, Agostinho AR, Ribeiro TA, et al. Impaired beta-cell function in the adult offspring of rats fed a protein-restricted diet during lactation is associated with changes in muscarinic acetylcholine receptor subtypes. *The British journal of nutrition*. 2013 Jul 11:1-9. PubMed PMID: 23841989.
6. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity*. 2011 Jun;19(6):1109-17. PubMed PMID: 21331068. Pubmed Central PMCID: 3130193.
7. Araujo AC, Bonfleur ML, Balbo SL, Ribeiro RA, de Freitas AC. Duodenal-jejunal bypass surgery enhances glucose tolerance and beta-cell function in Western diet obese rats. *Obesity surgery*. 2012 May;22(5):819-26. PubMed PMID: 22411572.
8. Gomes RM, Tofolo LP, Rinaldi W, Scomparin DX, Grassioli S, Barella LF, et al. Moderate Exercise Restores Pancreatic Beta-Cell Function and Autonomic Nervous System Activity in Obese Rats Induced by High-Fat Diet. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2013 Aug 5;32(2):310-21. PubMed PMID: 23942282.
9. OMS OMdS-. *Obesidade: Prevenindo e controlando a epidemia mundial Relatório da consultoria da OMS*. 2004:4.

10. Queiroz JC, Alonso-Vale MI, Curi R, Lima FB. [Control of adipogenesis by fatty acids]. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2009 Jul;53(5):582-94. PubMed PMID: 19768249. Controle da adipogenese por acidos graxos.
11. Fonseca-Alaniz MHT, J.; Alonso-Vale, M.I.C.; Lima, F.B. . O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2006 Abril;50(2).
12. Achten J, Jeukendrup AE. Effects of pre-exercise ingestion of carbohydrate on glycaemic and insulinaemic responses during subsequent exercise at differing intensities. *European journal of applied physiology*. 2003 Jan;88(4-5):466-71. PubMed PMID: 12527979.
13. Mente A, de Koning L, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Archives of internal medicine*. 2009 Apr 13;169(7):659-69. PubMed PMID: 19364995.
14. Donato AJ, Henson GD, Morgan RG, Enz RA, Walker AE, Lesniewski LA. TNF-alpha impairs endothelial function in adipose tissue resistance arteries of mice with diet-induced obesity. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2012 Sep 15;303(6):H672-9. PubMed PMID: 22821989. Pubmed Central PMCID: 3468456.
15. Keogh JB, Grieger JA, Noakes M, Clifton PM. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005 Jun;25(6):1274-9. PubMed PMID: 15774905.
16. Woodman CR, Thompson MA, Turk JR, Laughlin MH. Endurance exercise training improves endothelium-dependent relaxation in brachial arteries from hypercholesterolemic male pigs. *Journal of applied physiology*. 2005 Oct;99(4):1412-21. PubMed PMID: 15976363.
17. Kruk J. Physical activity in the prevention of the most frequent chronic diseases: an analysis of the recent evidence. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2007 Jul-Sep;8(3):325-38. PubMed PMID: 18159963.
18. Brum PC, Da Silva GJ, Moreira ED, Ida F, Negrao CE, Krieger EM. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. *Hypertension*. 2000 Dec;36(6):1018-22. PubMed PMID: 11116118.

19. Brum PCF, C. L. M; Tinucci, T.; Negrão, C. E. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. *Revista Paulista de Educação Física*. 2004 agosto;18:21-31.
20. Hamer M. The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms. *Sports medicine*. 2006;36(2):109-16. PubMed PMID: 16464120.
21. Lesniewski LA, Zigler ML, Durrant JR, Nowlan MJ, Folian BJ, Donato AJ, et al. Aging compounds western diet-associated large artery endothelial dysfunction in mice: Prevention by voluntary aerobic exercise. *Experimental gerontology*. 2013 Aug 13. PubMed PMID: 23954368.
22. Chari M, Lam CKL, Lam TKT. Hypothalamic Fatty Acid Sensing in the Normal and Disease States. In: Montmayeur JP, le Coutre J, editors. *Fat Detection: Taste, Texture, and Post Ingestive Effects*. *Frontiers in Neuroscience*. Boca Raton (FL)2010.
23. Koplan JP, Dietz WH. Caloric imbalance and public health policy. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1999 Oct 27;282(16):1579-81. PubMed PMID: 10546699.
24. IBGE. Pesquisa de Orçamento Familiar. 2009 Acesso em: Setembro/2013.
25. Morabia A, Abel T. The WHO report "Preventing chronic diseases: a vital investment" and us. *Sozial- und Praventivmedizin*. 2006;51(2):74. PubMed PMID: 18027782.
26. Lamounier RN, Pareja JC, Tambascia MA, Geloneze B. Incretins: clinical physiology and bariatric surgery--correlating the entero-endocrine system and a potentially anti-dysmetabolic procedure. *Obesity surgery*. 2007 May;17(5):569-76. PubMed PMID: 17658012.
27. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *The New England journal of medicine*. 1976 Aug 12;295(7):349-53. PubMed PMID: 934222.
28. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*. 1998 Jan 17;351(9097):173-7. PubMed PMID: 9449872.

29. Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, Jaddoe VW, Osmond C, Barker DJ. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia*. 2002 Mar;45(3):342-8. PubMed PMID: 11914739.
30. Flatt JP. Use and storage of carbohydrate and fat. *The American journal of clinical nutrition*. 1995 Apr;61(4 Suppl):952S-9S. PubMed PMID: 7900694.
31. Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 2007 Apr;15(4):798-808. PubMed PMID: 17426312.
32. Leite DLR, E.D.M.; Brandão-Neto, J. Obesidade: uma doença inflamatória. *Revista Ciência & Saúde*. 2009 Jul./Dez.;2(2):85-95.
33. Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, Gilroy DW, Haslett C, O'Neill LA, et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2007 Feb;21(2):325-32. PubMed PMID: 17267386. Pubmed Central PMCID: 3119634.
34. Friedman JM. The function of leptin in nutrition, weight, and physiology. *Nutrition reviews*. 2002 Oct;60(10 Pt 2):S1-14; discussion S68-84, 5-7. PubMed PMID: 12403078.
35. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2001 Jun;280(6):E827-47. PubMed PMID: 11350765.
36. Levin BE. Arcuate NPY neurons and energy homeostasis in diet-induced obese and resistant rats. *The American journal of physiology*. 1999 Feb;276(2 Pt 2):R382-7. PubMed PMID: 9950915.
37. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *The Journal of clinical investigation*. 2012 Jan 3;122(1):153-62. PubMed PMID: 22201683. Pubmed Central PMCID: 3248304.
38. Cintra DE, Ropelle ER, Moraes JC, Pauli JR, Morari J, Souza CT, et al. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PloS one*. 2012;7(1):e30571. PubMed PMID: 22279596. Pubmed Central PMCID: 3261210.



39. Williams LM. Hypothalamic dysfunction in obesity. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2012 Nov;71(4):521-33. PubMed PMID: 22954151.
40. De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*. 2005 Oct;146(10):4192-9. PubMed PMID: 16002529.
41. McARDLE WDea. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desenvolvimento humano*. 2003;5.Ed:1113. Epub Rio de Janeiro
42. Rondon MUPB, Brum, P.C. Exercício físico como tratamento não farmacológico da hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens*. 2003;10:134-7.
43. Henriksen EJ. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *Journal of applied physiology*. 2002 Aug;93(2):788-96. PubMed PMID: 12133893.
44. Pereira LO, Lancha AH, Jr. Effect of insulin and contraction up on glucose transport in skeletal muscle. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2004 Jan;84(1):1-27. PubMed PMID: 14642866.
45. Scheurink AJ, Steffens AB. Central and peripheral control of sympathoadrenal activity and energy metabolism in rats. *Physiology & behavior*. 1990 Dec;48(6):909-20. PubMed PMID: 2087525.
46. Scomparin DX, Gomes RM, Grassioli S, Rinaldi W, Martins AG, de Oliveira JC, et al. Autonomic activity and glycemic homeostasis are maintained by precocious and low intensity training exercises in MSG-programmed obese mice. *Endocrine*. 2009 Dec;36(3):510-7. PubMed PMID: 19856134.
47. Jeukendrup AE, Saris WH, Wagenmakers AJ. Fat metabolism during exercise: a review. Part I: fatty acid mobilization and muscle metabolism. *International journal of sports medicine*. 1998 May;19(4):231-44. PubMed PMID: 9657362.
48. Jeukendrup AE. Regulation of fat metabolism in skeletal muscle. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002 Jun;967:217-35. PubMed PMID: 12079850.
49. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Rosenblatt J, Wolfe RR. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *Journal of applied physiology*. 2000 May;88(5):1707-14. PubMed PMID: 10797133.

50. Achten J, Jeukendrup AE. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *International journal of sports medicine*. 2003 Nov;24(8):603-8. PubMed PMID: 14598198.
51. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition*. 2004 Jul-Aug;20(7-8):716-27. PubMed PMID: 15212756.
52. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation*. 2003 Jan 7;107(1):139-46. PubMed PMID: 12515756.
53. Welfare AloHa. *Australia's health, 2006*. Canberra: Australian Institute of Health and Welfare. 2006.
54. WHO. *Nutrition: Controlling the Global Obesity Epidemic*. World Health Organization; World Health Organization technical report series. 2002.
55. Kones R. Primary prevention of coronary heart disease: integration of new data, evolving views, revised goals, and role of rosuvastatin in management. A comprehensive survey. *Drug design, development and therapy*. 2011;5:325-80. PubMed PMID: 21792295. Pubmed Central PMCID: 3140289.
56. Prior LJ, Eikelis N, Armitage JA, Davern PJ, Burke SL, Montani JP, et al. Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension*. 2010 Apr;55(4):862-8. PubMed PMID: 20194306.
57. Elmquist JK, Flier JS. Neuroscience. The fat-brain axis enters a new dimension. *Science*. 2004 Apr 2;304(5667):63-4. PubMed PMID: 15064411.
58. Abizaid A, Horvath TL. Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regulatory peptides*. 2008 Aug 7;149(1-3):3-10. PubMed PMID: 18514925. Pubmed Central PMCID: 2605273.
59. Elmquist JK. Hypothalamic pathways underlying the endocrine, autonomic, and behavioral effects of leptin. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001 Dec;25 Suppl 5:S78-82. PubMed PMID: 11840221.

60. Esler M, Straznicky N, Eikelis N, Masuo K, Lambert G, Lambert E. Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension. *Hypertension*. 2006 Nov;48(5):787-96. PubMed PMID: 17000932.
61. Zukowska-Grojec Z. Neuropeptide Y. A novel sympathetic stress hormone and more. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1995 Dec 29;771:219-33. PubMed PMID: 8597401.
62. Kuo LE, Kitlinska JB, Tilan JU, Li L, Baker SB, Johnson MD, et al. Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome. *Nature medicine*. 2007 Jul;13(7):803-11. PubMed PMID: 17603492.
63. Zukowska Z. Atherosclerosis and angiogenesis: what do nerves have to do with it? *Pharmacological reports : PR*. 2005;57 Suppl:229-34. PubMed PMID: 16415503.
64. Samuelsson AM, Morris A, Igosheva N, Kirk SL, Pombo JM, Coen CW, et al. Evidence for sympathetic origins of hypertension in juvenile offspring of obese rats. *Hypertension*. 2010 Jan;55(1):76-82. PubMed PMID: 19901159.
65. Mora S, Cook N, Buring JE, Ridker PM, Lee IM. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events: potential mediating mechanisms. *Circulation*. 2007 Nov 6;116(19):2110-8. PubMed PMID: 17967770. Pubmed Central PMCID: 2117381.
66. Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, et al. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*. 2007 Jun;49(6):1298-306. PubMed PMID: 17438307.
67. Angell P, Chester N, Green D, Somauroo J, Whyte G, George K. Anabolic steroids and cardiovascular risk. *Sports medicine*. 2012 Feb 1;42(2):119-34. PubMed PMID: 22229259.
68. Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Miyauchi T, et al. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2004 Dec;27(12):947-53. PubMed PMID: 15894835.
69. Forjaz CLMT, T. A medida da pressão arterial no exercício. *Revista Brasileira de Hipertensão*. 2000;7(1 ):79-87.

70. Medeiros AG, R. M.; Kalil, L. M. P.; Bacurau, R. F. P.; Rosa, L. F. B. C.; Negrão, C. E.; Brum, P. C.; Forjaz, C. L. M; Tinucci, T.; Negrão, C. E. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. *Revista Paulista de Educação Física*. 2000 Janeiro/Junho;14(1):7-15.
71. Martins-Pinge MC, Baraldi-Passy I, Lopes OU. Excitatory effects of nitric oxide within the rostral ventrolateral medulla of freely moving rats. *Hypertension*. 1997 Sep;30(3 Pt 2):704-7. PubMed PMID: 9323009.
72. Park Y, Booth FW, Lee S, Laye MJ, Zhang C. Physical activity opposes coronary vascular dysfunction induced during high fat feeding in mice. *The Journal of physiology*. 2012 Sep 1;590(Pt 17):4255-68. PubMed PMID: 22674721. Pubmed Central PMCID: 3473283.
73. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001 Dec;25 Suppl 5:S56-62. PubMed PMID: 11840217.
74. Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2002 Dec;16(4):623-37. PubMed PMID: 12468411.
75. Coll AP, Farooqi IS, O'Rahilly S. The hormonal control of food intake. *Cell*. 2007 Apr 20;129(2):251-62. PubMed PMID: 17448988. Pubmed Central PMCID: 2202913.
76. Antuna-Puente B, Fève B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & metabolism*. 2008 Feb;34(1):2-11. PubMed PMID: 18093861.
77. da Mota GR, Zanesco A. [Leptin, ghrelin, and physical exercise]. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2007 Feb;51(1):25-33. PubMed PMID: 17435852. Leptina, ghrelina e exercício físico: Leptin, ghrelin, and physical exercise.
78. Kim S, Moustaid-Moussa N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. *The Journal of nutrition*. 2000 Dec;130(12):3110S-5S. PubMed PMID: 11110881.

79. Widdowson PS, Upton R, Buckingham R, Arch J, Williams G. Inhibition of food response to intracerebroventricular injection of leptin is attenuated in rats with diet-induced obesity. *Diabetes*. 1997 Nov;46(11):1782-5. PubMed PMID: 9356026.
80. Bergouignan A, Momken I, Schoeller DA, Normand S, Zahariev A, Lescure B, et al. Regulation of energy balance during long-term physical inactivity induced by bed rest with and without exercise training. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010 Mar;95(3):1045-53. PubMed PMID: 20061436.
81. Jiexiu Zhao YT, Jincheng Xu, Dongsen Liu, Xiaofang Wang and Binxiu Zhao. <http://www.lipidworld.com/content/10/1/225>. 2011;10(225).
82. Kahn C.R BJC, Michael M.D, Kulkarni R.N. Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000;13 (Suppl 6):1377-84.
83. Marcelo B.S. Flores MFAF, Eduardo R. Ropelle, Marcel C. Faria, Mirian Ueno, Lício A. Velloso, Mario J.A. Saad, and Jose´ B.C. Carvalheira. Exercise Improves Insulin and Leptin Sensitivity in Hypothalamus of Wistar Rats. *Diabetes*. 2006;55.
84. Lalli CA, Pauli JR, Prada PO, Cintra DE, Ropelle ER, Velloso LA, et al. Statin modulates insulin signaling and insulin resistance in liver and muscle of rats fed a high-fat diet. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008 Jan;57(1):57-65. PubMed PMID: 18078859.
85. Halade GV, Rahman MM, Williams PJ, Fernandes G. High fat diet-induced animal model of age-associated obesity and osteoporosis. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2010 Dec;21(12):1162-9. PubMed PMID: 20149618. Pubmed Central PMCID: 2888860.
86. Sim YJ, Kim SS, Kim JY, Shin MS, Kim CJ. Treadmill exercise improves short-term memory by suppressing ischemia-induced apoptosis of neuronal cells in gerbils. *Neuroscience letters*. 2004 Dec 6;372(3):256-61. PubMed PMID: 15542251.
87. Vaynman S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. *The European journal of neuroscience*. 2004 Nov;20(10):2580-90. PubMed PMID: 15548201.
88. Ernst C, Olson AK, Pinel JP, Lam RW, Christie BR. Antidepressant effects of exercise: evidence for an adult-neurogenesis hypothesis? *Journal of psychiatry &*

neuroscience : JPN. 2006 Mar;31(2):84-92. PubMed PMID: 16575423. Pubmed Central PMCID: 1413959.

89. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain research*. 1996 Jul 8;726(1-2):49-56. PubMed PMID: 8836544.

90. Russo-Neustadt A, Beard RC, Cotman CW. Exercise, antidepressant medications, and enhanced brain derived neurotrophic factor expression. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 1999 Nov;21(5):679-82. PubMed PMID: 10516964.

91. Kalmijn S, van Boxtel MP, Ocke M, Verschuren WM, Kromhout D, Launer LJ. Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology*. 2004 Jan 27;62(2):275-80. PubMed PMID: 14745067.

92. Muller AP, Cammarota M, Dietrich MO, Rotta LN, Portela LV, Souza DO, et al. Different effect of high fat diet and physical exercise in the hippocampal signaling. *Neurochemical research*. 2008 May;33(5):880-5. PubMed PMID: 18034303.

93. El-Haschimi K, Pierroz DD, Hileman SM, Bjorbaek C, Flier JS. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 2000 Jun;105(12):1827-32. PubMed PMID: 10862798. Epub 2000/06/23. eng.

94. Gobatto CA, Mello MA, Souza CT, Ribeiro IA. The monosodium glutamate (MSG) obese rat as a model for the study of exercise in obesity. *Research communications in molecular pathology and pharmacology*. 2002;111(1-4):89-101. PubMed PMID: 14632317.

95. Patterson CM, Dunn-Meynell AA, Levin BE. Three weeks of early-onset exercise prolongs obesity resistance in DIO rats after exercise cessation. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2008 Feb;294(2):R290-301. PubMed PMID: 17989137.

96. Woods SC, Seeley RJ, Rushing PA, D'Alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *The Journal of nutrition*. 2003 Apr;133(4):1081-7. PubMed PMID: 12672923.

97. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *American journal of physiology*

Regulatory, integrative and comparative physiology. 2004 Apr;286(4):R771-8. PubMed PMID: 14695115.

98. FoureauxII GKMDCPAD. Efeito do consumo excessivo de oxigênio após exercício e da taxa metabólica de repouso no gasto energético. Revista Brasileira de Medicina do Esporte. 2006;12(6).

99. Scomparin DX, Grassioli S, Marcal AC, Gravena C, Andreazzi AE, Mathias PC. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium L-glutamate-obesity onset in mice. Life sciences. 2006 Oct 26;79(22):2151-6. PubMed PMID: 16934841.

100. Scheurink AJ, Steffens AB, Dreteler GH, Benthem L, Bruntink R. Experience affects exercise-induced changes in catecholamines, glucose, and FFA. Am J Physiol. 1989 Jan;256(1 Pt 2):R169-73. PubMed PMID: 2643351. Epub 1989/01/01. eng.

101. Andreazzi AE, Scomparin DX, Mesquita FP, Balbo SL, Gravena C, De Oliveira JC, et al. Swimming exercise at weaning improves glycemic control and inhibits the onset of monosodium L-glutamate-obesity in mice. The Journal of endocrinology. 2009 Jun;201(3):351-9. PubMed PMID: 19297408.

102. Bray GA, Inoue S, Nishizawa Y. Hypothalamic obesity. The autonomic hypothesis and the lateral hypothalamus. Diabetologia. 1981 Mar;20 Suppl:366-77. PubMed PMID: 7014333.

103. Giordano A, Song CK, Bowers RR, Ehlen JC, Frontini A, Cinti S, et al. White adipose tissue lacks significant vagal innervation and immunohistochemical evidence of parasympathetic innervation. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2006 Nov;291(5):R1243-55. PubMed PMID: 16809481.

104. DiBona GF. Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2000 Nov;279(5):R1517-24. PubMed PMID: 11049831.

105. Chen SJ, Wu CC, Yen MH. Exercise training activates large-conductance calcium-activated K(+) channels and enhances nitric oxide production in rat mesenteric artery and thoracic aorta. Journal of biomedical science. 2001 May-Jun;8(3):248-55. PubMed PMID: 11385296.

106. Danson EJ, Paterson DJ. Cardiac neurobiology of nitric oxide synthases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005 Jun;1047:183-96. PubMed PMID: 16093496.
107. Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, et al. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*. 2007 May 30;133(2):115-20. PubMed PMID: 17196889.
108. Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrao CE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica* [et al]. 2004 Dec;37(12):1909-17. PubMed PMID: 15558199.



# ANEXOS

---

---

**ARTIGO: Enviado para European Journal of Nutrition**

**Short-term moderate exercise provides long-lasting protective effects against metabolic diseases in rats fed with a high-fat diet**

Laize Peron Tófolo<sup>1</sup>, Tatiane Aparecida da Silva Ribeiro<sup>1</sup>, Ananda Malta<sup>1</sup>, Rosiane Aparecida Miranda<sup>1</sup>, Rodrigo Mello Gomes<sup>1</sup>, Júlio Cezar de Oliveira<sup>1</sup>, Douglas Lopes Almeida<sup>1</sup>, Gabriel Sergio Fabricio<sup>1</sup>, Wilson Rinaldi<sup>1</sup>, Luiz Felipe Barella<sup>1</sup>, Amanda Bianchi Trombini<sup>1</sup>, Audrei Pavanello<sup>1</sup>, Latifa Abdennebi-Najar<sup>2</sup>, Paulo Cezar de Freitas Mathias<sup>1</sup>, Kesia Palma-Rigo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Secretion Cell Biology, Department of Biotechnology, Genetics and Cell Biology, State University of Maringá - 87020-900 Maringá/PR, Brazil

<sup>2</sup>UPSP-EGEAL Institut Polytechnique LaSalle de Beauvais 6000- France.

**Correspondence to:** Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias; Department of Biotechnology, Genetics and Cell Biology; Laboratory of Secretion Cell Biology - Block H67, room 19. State University of Maringá/UEM - Phone/Fax + 55 (44) 3011 4892. Colombo Avenue 5970, 87020-900, Maringá/PR - Brazil

**E-mail address:** [pmathias@uem.br](mailto:pmathias@uem.br)

**Running title:** Exercise protects against high-fat diet insults

**Background/objectives:** A sedentary lifestyle and high-fat feeding are risk factors for cardiometabolic disorders. Studies report that moderate exercise may be an efficient method of protecting against these obesity-related diseases. This study determined whether moderate exercise training that was performed after puberty could prevent the cardiometabolic changes induced by a high-fat diet (HFD). **Subjects/Methods:** Sixty-day-old rats (n: 22-30) were subjected to moderate exercise, three times a week for 30 days. After the exercise period, trained rats received a HFD or a commercial normal diet (NFD) for 30 more days (EXE-HFD and EXE-NFD, respectively). Sedentary animals also received the diets (SED-HFD and SED-NFD). Food intake and body weight were measured weekly. After 120 days of life, the blood pressure, heart rate, and sympathetic and parasympathetic nerve activity were recorded, and an intravenous glucose tolerance test was performed. Retroperitoneal and periepididymal fat deposits and neuropeptide Y expression were measured. Data were analyzed with a two-way ANOVA and the Tukey post-test. **Results:** The body weight gain induced by HFD was attenuated in trained animals ( $p_i < 0.01$ ). HFD reduced food intake by approximately 30% ( $p_d < 0.001$ ) and increased body fat stores by approximately 75% ( $p_d < 0.001$ ). Exercise attenuated 80% of the increase in the fat pads ( $p_e < 0.001$ ). In the SED-HFD animals, HFD induced a hyper-response to glucose injection, and exercise attenuated this response by 50% ( $p_i < 0.05$ ). Blood pressure was increased by HFD ( $p_d < 0.001$ ), and the beneficial effect of exercise in reducing blood pressure was inhibited by HFD ( $p_i < 0.01$ ). HFD increased vagal activity by 65% in SED-HFD compared with that in the SED-NFD rats, and exercise blocked this increase ( $p_i < 0.01$ ). HFD reduced sympathetic activity and inhibited the beneficial effect of exercise in ameliorating sympathetic activity ( $p_i < 0.05$ ). HFD and exercise each decreased NPY expression (approximately 43% with  $p_d < 0.001$  and 20% with  $p_e < 0.05$ , respectively). **Conclusion:** Short-term moderate low-frequency exercise that is performed after puberty protects the metabolism but not the cardiovascular system against the deleterious effects of a HFD.

**Keywords:** Exercise, High-Fat Diet, Obesity, Cardiometabolic Syndrome, Autonomic Nervous System, Neuropeptide Y.

## Introduction

Obesity has been considered a major public health problem, that can be related to a sedentary lifestyle and western diet, which is rich in calories, including fatty acids (1). The main consequence of obesity is metabolic syndrome, which is defined as a cluster of metabolic and cardiovascular dysfunctions, including central adiposity, dyslipidemia, elevated blood pressure, and impaired glucose homeostasis. The clustering of risks factors for metabolic syndrome may depend on stressful factors in early life (2). The prevalence of metabolic syndrome in young adults, which covers the transition period from adolescence into adulthood, has increased in the last years (3) and may depend on shifts in dietary and lifestyle patterns due to environmental and social pressure (4). Therefore, strategies for risk factor management are needed at an early age, but the influence of diet and physical activity on cardiometabolic outcomes during the post-puberty period is not clear.

A high-fat diet (HFD) is linked to many of the metabolic and cardiovascular changes that are characteristic of human obesity and related to metabolic syndrome (5, 6). Animals readily accumulate adipose tissue and develop higher blood pressure and insulin resistance when they consume a short-term HFD (7, 8). These changes may be involved in the hypothalamic regulation of the autonomic nervous system (ANS) (9-11).

Studies have reported the beneficial effects of moderate exercise in preventing obesity and metabolic syndrome. Moderate exercise that is started after weaning appears to induce better protection against metabolic disorders than exercise that is started later in life (12), emphasizing the importance of interventions during the period of active brain development (13). Furthermore, unpublished results suggested that the post-puberty period may be susceptible to dietary insults (such as protein restriction), leading to long-lasting changes in fat deposition, glucose homeostasis and the ANS. However, it has been shown that moderate exercise stimulates neuronal plasticity, which may contribute to its protective effect (14-16). Additionally, spontaneous exercise that is performed during the post-puberty period has also been shown to have a protective effect on metabolism (17).

Most of the studies on the mechanism underlying the protective effect of exercise evaluate exercise that is performed concurrently with an obesity-inducing factor. However, the long-lasting protective effect of exercise remains controversial (18, 19). Furthermore, post-weaning exercise benefits are still present when the exercise intensity is low (20). It is important to consider the duration, frequency and type of exercise that is necessary to obtain the protective and beneficial effects of exercise (21). We hypothesized that short-term moderate exercise at low frequency that is performed after puberty may provide a long-lasting protective effect on the metabolism and cardiovascular systems in HFD-fed rats.

## **Materials and Methods**

### *Experimental model and diet*

Fifty-day-old male Wistar rats were housed with three animals per cage and were provided water and food *ad libitum* in a room that was maintained at  $22\pm 2$  °C with a 12 h/12 h light/dark cycle. After 10 days of adaptation, a group of 60-day-old rats underwent an exercise training protocol for 30 days. The control rats remained sedentary. During this period, all animals were fed with a normal-fat diet (NFD). After this period (from 90 to 120 days of life), the animals were fed with a NFD or HFD and remained sedentary. Four groups were obtained: sedentary rats subjected to an NFD (SED-NFD), sedentary rats subjected to an HFD (SED-HFD), exercised rats subjected to an NFD (EXE-NFD) and exercised rats subjected to an HFD (EXE-HFD). All protocols were approved by the Ethics Committee of the State University of Maringá.

Table 1 shows the composition of the commercial NFD (AIN 93 M, Nuvital-Curitiba/PR) with 4.336 kcal/g and the hypercaloric homemade HFD with 5.856 kcal/g and 35% lard.

### *Short-term moderate treadmill exercise protocol*

The rats were trained on an animal treadmill (model ET-2000 Insight; Ribeirão Preto/SP, Brazil) three times a week for four weeks (12 sessions from 60 to 90 days of life), always in the morning. A plastic ball that was 10 cm in diameter was placed on the back end of the treadmill as a contact stimulus to keep the animal moving. The training started with sessions of 10 m/min for 10 minutes and finished with sessions of 16 m/min

for 60 minutes by the end of the fourth week. This protocol was used to maintain the desired range of aerobic  $VO_{2max}$  and was modified from a moderate physical exercise protocol proposed by Negrão et al. (1992) (22) and was previously reported (Gomes R.M. et al., 2013) (7). A maximum effort test was performed (before, in the middle and at the end of the exercise protocol) using the peak velocity values to obtain the values of  $VO_{2max}$ , confirming the type of physical exercise performed. This adapted protocol used 55%  $VO_{2max}$  as a moderate intensity.

#### *Food intake and body weight gain*

The food was weighed once a week from 60 to 120 days of life. The food intake was calculated as the difference between the amount of food remaining and the total provided, which was divided by the number of days and the number of rats in the box (23). The animals were weighed once a week during the experimental period.

#### *Intravenous glucose tolerance test*

A silicone cannula was implanted into the right jugular vein of 120-day-old rats, which were under anesthesia (ketamine/xylazine, 0.5 mg/100 g of body weight each). After 12 h of fasting (from 8 PM to 8 AM), the animals received a bolus of glucose (1 g/kg of body weight). Blood samples were collected via the implanted cannula 0 min prior to the glucose infusion and 5, 15, 30 and 45 min after the infusion. Plasma was used to determine glycemia by the glucose-oxidase technique (Gold Analisa® Belo Horizonte/MG, Brazil). The glucose responses during the glucose tolerance test were calculated by estimating the total area under the glucose curve using the trapezoidal method (24).

#### *Cardiovascular parameters*

After 12 h of fasting, catheters (PE-10) filled with 5% heparinized saline were implanted into the femoral artery in rats that were anesthetized with thiopental (45 mg/kg of body weight). The arterial cannula was connected to a fluid-filled blood pressure transducer (MLT0699, ADInstruments, Dunedin, New Zealand), which was connected to a signal amplifier (Insight, Ribeirão Preto/SP Brazil). Direct recordings of the arterial pressure (AP) were performed over 10 min by a microcomputer equipped with an analog-to-digital converter board (CODAS, 1-kHz sampling frequency, Dataq Instruments, Inc, Akron, OH). Each recording was visualized to select segments without

erratic fluctuations and with sufficient duration (1 min) (25). Analyses were performed on a beat-to-beat basis, over two periods of one min per animal, to quantify the changes in the mean AP and heart rate (HR) (26).

#### *Parasympathetic and sympathetic activity*

After the blood pressure recordings, a longitudinal surgical incision was made on the anterior cervical region of the animals. The left vagus superior branch was isolated and placed over a silver electrode inside a faraday cage, as previously described [6]. After 12 min of vagus nerve electrical recordings, a laparotomy was performed to isolate the branch of the sympathetic nerve that is located in the splanchnic region; this branch originates in the lumbar plexus at the level of L2 and extends to the retroperitoneal adipose tissue.

The neural signal output was acquired using the Insight interface (Insight®, Riberão Preto, SP Brazil) for 12 min, from which twenty recorded frames of 5 sec from each animal were randomly chosen for spike counting. Spikes greater than 0 mV were considered. The average number of spikes was used as the nerve firing rate.

#### *Evaluation of obesity*

After autonomic nerve recoding, anaesthetized animals were euthanized by decapitation. Retroperitoneal and periepididymal fat pads were removed and weighed. The percentage of fat relative to the total animal body weight was used as an estimation of the total fat accumulation.

#### *Western blotting*

Immediately after the euthanasia, the hypothalamus was removed and frozen at -80 °C. Protein quantification was performed using the sonicated and centrifuged hypothalamus using the method established for a BCA™ kit (Thermo Scientific®, Rockford / IL, USA) and then read in an appropriate microplate reader (Multi-Mode Microplate Reader, FlexStation® 3 Benchtop, Molecular Devices, Sunnyvale/CA, USA) as previously described (27). Neuropeptide Y was quantified by western blotting using primary polyclonal antibody (anti-neuropeptide Y (NPY), ABBIOTEC™ San Diego/CA, USA) and polyclonal anti-rabbit secondary antibody conjugated to peroxidase (Sigma-Aldrich®, St. Louis/MO, USA) diluted 1:10000 in Tris-HCl, 20 mmol/L; NaCl, 137 mmol/L

and Tween 20 (0.05%). The bands were quantified by densitometry using the ImageJ 1.4 software program (Wayne Rasband National Institute of Health, Bethesda/MA, USA). The protein  $\beta$ -actin (Santa Cruz Biotechnology Inc. Santa Cruz, CA, USA, diluted 1:1000 in TTBS) was used as an internal control for normalization.

#### *Statistical analysis*

Data were expressed as the mean  $\pm$  SEM. GraphPad Prism version 6.01 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) was used for statistical analyses and developing graphs. Statistical analysis was performed by two-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey multiple comparisons test. A p value less than 0.05 was considered significant when considering the main effect of diet (D), exercise (E) and their interaction (I; diet versus (vs) exercise).

### **Results**

#### *Food intake and body weight*

During the physical exercise period, from 60 to 90 days of life, the food consumption of the animals did not significantly differ. After this period, the HFD induced a decrease in food intake ( $p_d < 0.001$ ) in both animal groups (figure 1). During the second week of the HFD treatment, the food consumption decreased by 27% in SED-HFD and 33% in the EXE-HFD animals and remained at those levels until the end of the diet. The physical exercise performed prior to the diet exposure did not influence the food consumption in the EXE-NFD or EXE-HFD animals.

During the training period, physical exercise only attenuated the body weight gain during the last week (figure 1). Furthermore, the HFD induced a greater body weight gain, which was continually attenuated by the prior exercise in EXE-HFD rats, after the second week of the diet, resulting in a significant diet vs exercise interaction ( $p_i < 0.001$ ; figure 1).

#### *Fat deposition*

Fat deposition was evaluated in 90- and 120-day-old animals. At 90 days of life, the EXE-NFD animals showed lower fat deposition than that of the SED-NFD animals ( $p < 0.05$ ). At 120 days of life, HFD-fed animals showed approximately 75% greater retroperitoneal fat deposition compared with that of the NFD rats ( $p_d < 0.001$ ).

Interestingly, the previous exercise attenuated the body fat gain in approximately 80% of the EXE-NFD and EXE-HFD animals ( $p_e < 0.001$ ). No interaction was observed between diet and exercise ( $p_i = 0.47$ ). The periepididymal and mesenteric fats showed a similar profile (table 2).

### *Glycemia*

Fasting glycemia was not affected by the exercise or HFD (table 2). During the ivGTT (figure 2a), the SED-HFD animals showed a greater glucose increment over the 45 min of test after the glucose bolus injection. This pattern led to an increase in the AUC of glycemia (SED-HFD vs SED-NFD: 41%; EXE-HFD vs EXE-NFD: 22%;  $p_d < 0.001$ ; figure 2b). Interestingly, the previous exercise attenuated the AUC of glycemia by 16% in the EXE-HFD animals only, which led to a significant exercise vs diet interaction ( $p_i < 0.05$ ).

### *Blood pressure*

The HFD increased the systolic and diastolic blood pressure (figure 3a and 3b, respectively,  $p_d < 0.001$ ). The previous exercise reduced the systolic and diastolic blood pressure by 12% in the EXE-NFD animals compared with that in SED-NFD (Tukey post-test:  $p < 0.01$ ). However, the exercise-induced reduction in blood pressure in the EXE-NFD animals was not observed in the EXE-HFD animals. This pattern was reflected by a significant diet vs exercise interaction (figure 3a and 3b,  $p_i < 0.01$ ).

The HFD increased the cardiac frequency by 18% ( $p_d < 0.01$ ). The previous physical exercise did not affect the cardiac frequency (figure 3c).

### *Parasympathetic and sympathetic activity*

The HFD increased the vagal tone by 65% in the SED-HFD animals (figure 4a; Tukey post-test:  $p < 0.001$ ). However, previous exercise blocked the HFD-induced increase in vagal activity in EXE-HFD animal, leading to a significant diet vs exercise interaction ( $p_i < 0.01$ ).

The HFD decreased the sympathetic nerve activity (figure 4b,  $p_d < 0.001$ ), while exercise increased it (figure 4b,  $p_e < 0.001$ ). The exercise-induced increase in sympathetic activity was attenuated by 50% in the EXE-HFD animals, leading to a significant diet vs exercise interaction ( $p_i < 0.05$ ).



### *NPY expression*

The HFD decreased the NPY expression in the hypothalamus of the sedentary (40%) and exercised (46%) animals ( $p_d < 0.001$ ). The physical exercise also decreased the NPY expression in the hypothalamus of the EXE-NFD (19%) and EXE-HFD animals (21%;  $p_e < 0.05$ ) (figure 1). There was no interaction between diet and exercise ( $p = 0.63$ ).

### **Discussion**

The major finding of this study was that previous exercise that was performed after puberty protected the metabolism, but not the cardiovascular system against the deleterious effect of a HFD. Earlier studies have shown that performing exercise during the post-weaning period protects animals from developing the full obesity phenotype (28, 29). The studies suggested that this long-lasting protective effect may indicate that neural pathways, via both their function and their organization, are involved in regulating energy homeostasis during critical developmental periods. Interestingly, the present findings suggest that the post-puberty period may also be a susceptible period that can provide long-lasting beneficial effects from exercise.

Wistar rats that were pre-exposed to exercise during their young adult life showed an attenuated body weight gain and reduced body fat deposition after consuming a HFD. These findings contrast with a study using a genetic model of obesity with a congenital deficiency of the cholecystokinin 1 receptor (implicated on satiety), the Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats, which are already overweight at 8 weeks of life (17). In that study, Chao et al. showed that the long-lasting protective effect of spontaneous exercise, which was performed during a period similar to that of the present study, was no longer evident when the animals consumed a HFD (17). The animals that consumed a HFD after exercise regained their body weight and fat deposits, and this effect may depend on hyperphagic behavior (17). Interestingly, the hyperphagia observed in the OLETF rats may be attenuated via a long-lasting beneficial effect of exercise on dorsomedial hypothalamus NPY expression (28). Importantly, in the present study, the HFD animals showed reduced food intake and NPY expression in the hypothalamus, which is consistent with previous studies (30, 31) and contradicts the findings presented by Chao et al from overweight rats. (17).

The exercise programming also protected against HFD-induced changes in glucose tolerance. This finding is consistent with a recent study showing that mice subjected to exercise from 9 weeks of life had improved glucose tolerance at 20 weeks of life (32). Furthermore, the preventive effect against the development of non-insulin dependent diabetes mellitus has been shown to last for at least 3 months after the cessation of exercise in OLETF rats (33). Conversely, exercised obese OLETF rats that consumed a HFD became glucose intolerant and insulin insensitive to the same degree as the sedentary OLETF rats on a HFD (17). Together, these studies suggest that the protective effect of exercise is more evident when the exercise exposure happens during healthy conditions. Previous studies from our group have shown that the beneficial effect of exercise on glucose metabolism may depend on an improvement in pancreatic islet function and ANS activity in different models of metabolic syndrome (7, 20, 34, 35). Additionally, early-life exercise training in rats that were born small, which suggests a tendency for developing diabetes, restored the beta-cell mass in adulthood (36).

Previously, we showed that exercise performed early in life ameliorates the balance between autonomic nerve activity and catecholamine content in the adrenal gland in a model of programmed metabolic syndrome with monosodium L-glutamate (MSG) (34, 35). Additionally, this benefit of exercise on the ANS may last for several weeks (12) with increased sympathetic and reduced parasympathetic nerve activity in obese MSG rats that performed exercise during post-weaning and puberty period (unpublished data). This pattern is also observed in the present study, in which Wistar rats that were exposed to exercise training during the post-puberty period showed a long-lasting protective effect against HFD-induced autonomic changes. Barella et al showed that a HFD increases parasympathetic nerve activity independent of the period of life when the diet is offered (37). Furthermore, these changes may depend on a central pattern that has been implicated in energy balance (6, 8, 10). The mechanisms underlying the beneficial effect of exercise on the ANS remains unclear, but some studies have suggested that they may depend on the plasticity of the central nervous system and modulation of neuropeptides that regulate the ANS (38-40). The present findings show that exercise has a long-lasting effect to reduce NPY protein expression and a significant effect on increasing sympathetic nerve activity and reducing

parasympathetic nerve activity. NPY signaling has been suggested to reduce sympathetic output via tyrosine-hydroxylase neurons (40), which may be involved in a potential pathway that contributes to the beneficial effect of exercise on ANS that is observed in the present study.

The current study also shows that a HFD increases blood pressure and heart rate; these findings were previously demonstrated in different animal models (6, 8, 41). In contrast to the present findings on metabolism and the data from literature (42), exercise did not protect the animals from the HFD-induced deleterious effect on cardiovascular parameters. Recent studies have shown that performing exercise concomitant to the consumption of a high-fructose diet, which leads to hypertension, prevented cardiovascular disorders (43-45). Furthermore, long-term exercise (up to 10 weeks) showed a long-lasting protective effect on the cardiovascular and autonomic dysfunction observed in streptozotocin-diabetic or infarcted rats, thus also reducing mortality (46-48). This beneficial effect of exercise on cardiovascular parameters may indicate a role of central mechanisms and their modulation of the ANS, mainly the parasympathetic nervous system (39, 47, 49). Neurotrophic factors, mainly brain-derived neurotrophic factor, whose levels are increased centrally by exercise and remain elevated (50, 51), may modulate the ANS control of blood pressure and heart rate via central baroreflex pathways (15, 39). The present study showed a beneficial effect of exercise on blood pressure only in the control animals. However, a protective effect of exercise on the HFD-induced disturbance of blood pressure and heart rate was not observed. The deleterious HFD-induced effect may indicate a role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus and its capacity to stimulate the kidney and muscles through the sympathetic nervous system (10, 41, 52); this effect may predominate over the protective cardiovascular pathways modulated by exercise. Furthermore, four weeks of moderate exercise at low frequency may not be sufficient to initiate the long-lasting cardiovascular protection mechanism (53).

In conclusion, a HFD disturbs metabolism and the cardiovascular system, but four weeks of moderate exercise at low frequency is able to protect against the metabolic dysfunction induced by a dietary insult. The mechanism underlying the long-lasting protection of glucose metabolism and body weight may depend, at least in part, on the

central hypothalamic NPY modulation of the autonomic nervous system. Finally, the benefits of this exercise pattern are not sufficiently strong to protect the cardiovascular metabolism against the HFD insult. Thus, the ideal physical exercise that will lead to a long-lasting protective effect against cardiometabolic syndrome remains unclear, but early life may be a susceptible period during which permanent preventive actions can be established.

**Acknowledgements:** This research was supported by the Brazilian Research Agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, and Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES.

**Conflict of interest:** The author declares no conflict of interest

## References

1. Casazza K, Dulin-Keita A, Gower BA, Fernandez JR. Differential influence of diet and physical activity on components of metabolic syndrome in a multiethnic sample of children. *Journal of the American Dietetic Association*. 2009 Feb;109(2):236-44. PubMed PMID: 19167950. Pubmed Central PMCID: 2743425.
2. Lopez-Jaramillo P, Lahera V, Lopez-Lopez J. Epidemic of cardiometabolic diseases: a Latin American point of view. *Therapeutic advances in cardiovascular disease*. 2011 Apr;5(2):119-31. PubMed PMID: 21406494.
3. Ervin RB. Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003-2006. *National health statistics reports*. 2009 May 5(13):1-7. PubMed PMID: 19634296.
4. Deshmukh-Taskar PR, O'Neil CE, Nicklas TA, Yang SJ, Liu Y, Gustat J, et al. Dietary patterns associated with metabolic syndrome, sociodemographic and lifestyle factors in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Public health nutrition*. 2009 Dec;12(12):2493-503. PubMed PMID: 19744354. Pubmed Central PMCID: 2792890.
5. Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*. 2007 Apr;15(4):798-808. PubMed PMID: 17426312.
6. pBarnes MJ, Lapanowski K, Conley A, Rafols JA, Jen KL, Dunbar JC. High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic mu opioid receptors. *Brain research bulletin*. 2003 Sep 30;61(5):511-9. PubMed PMID: 13679250.
7. Gomes RM, Tofolo LP, Rinaldi W, Scomparin DX, Grassioli S, Barella LF, et al. Moderate Exercise Restores Pancreatic Beta-Cell Function and Autonomic Nervous System Activity in Obese Rats Induced by High-Fat Diet. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2013 Aug 5;32(2):310-21. PubMed PMID: 23942282.
8. Prior LJ, Eikelis N, Armitage JA, Davern PJ, Burke SL, Montani JP, et al. Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve

activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension*. 2010 Apr;55(4):862-8. PubMed PMID: 20194306.

9. Wang H, Storlien LH, Huang XF. Influence of dietary fats on c-Fos-like immunoreactivity in mouse hypothalamus. *Brain research*. 1999 Oct 2;843(1-2):184-92. PubMed PMID: 10528124.

10. Chen F, Cham JL, Badoer E. High-fat feeding alters the cardiovascular role of the hypothalamic paraventricular nucleus. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2010 Mar;298(3):R799-807. PubMed PMID: 20042687.

11. Matsuo T, Iwashita S, Komuro M, Suzuki M. Effects of high-fat diet intake on glucose uptake in central and peripheral tissues of non-obese rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 1999 Oct;45(5):667-73. PubMed PMID: 10683817.

12. Scomparin DX, Grassioli S, Marcal AC, Gravena C, Andreazzi AE, Mathias PC. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium L-glutamate-obesity onset in mice. *Life sciences*. 2006 Oct 26;79(22):2151-6. PubMed PMID: 16934841.

13. Levin BE. Factors promoting and ameliorating the development of obesity. *Physiology & behavior*. 2005 Dec 15;86(5):633-9. PubMed PMID: 16229869.

14. Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. *Obesity*. 2006 Mar;14(3):345-56. PubMed PMID: 16648603.

15. Rothman SM, Griffioen KJ, Wan R, Mattson MP. Brain-derived neurotrophic factor as a regulator of systemic and brain energy metabolism and cardiovascular health. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012 Aug;1264(1):49-63. PubMed PMID: 22548651. Pubmed Central PMCID: 3411899.

16. Wang Q, Wang M, Whim MD. Neuropeptide y gates a stress-induced, long-lasting plasticity in the sympathetic nervous system. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2013 Jul 31;33(31):12705-17. PubMed PMID: 23904607. Pubmed Central PMCID: 3728685.

17. Chao PT, Terrillion CE, Moran TH, Bi S. High-fat diet offsets the long-lasting effects of running-wheel access on food intake and body weight in OLETF rats.

American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2011 Jun;300(6):R1459-67. PubMed PMID: 21368270. Pubmed Central PMCID: 3119147.

18. Yasari S, Paquette A, Charbonneau A, Gauthier MS, Savard R, Lavoie JM. Effects of ingesting a high-fat diet upon exercise-training cessation on fat accretion in the liver and adipose tissue of rats. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2006 Aug;31(4):367-75. PubMed PMID: 16900225.

19. Applegate EA, Upton DE, Stern JS. Exercise and detraining: effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne-Mendel rats made obese by a high fat diet. *The Journal of nutrition*. 1984 Feb;114(2):447-59. PubMed PMID: 6694004.

20. Scomparin DX, Grassioli S, Gomes RM, Torrezan R, de Oliveira JC, Gravena C, et al. Low-Intensity swimming training after weaning improves glucose and lipid homeostasis in MSG hypothalamic obese mice. *Endocrine research*. 2011;36(2):83-90. PubMed PMID: 21539446.

21. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition*. 2004 Jul-Aug;20(7-8):716-27. PubMed PMID: 15212756.

22. Negrao CE, Moreira ED, Santos MC, Farah VM, Krieger EM. Vagal function impairment after exercise training. *J Appl Physiol (1985)*. 1992 May;72(5):1749-53. PubMed PMID: 1601782.

23. Vicente LL, de Moura EG, Lisboa PC, Monte Alto Costa A, Amadeu T, Mandarim-de-Lacerda CA, et al. Malnutrition during lactation in rats is associated with higher expression of leptin receptor in the pituitary of adult offspring. *Nutrition*. 2004 Oct;20(10):924-8. PubMed PMID: 15474883.

24. Milanski M, Arruda AP, Coope A, Ignacio-Souza LM, Nunez CE, Roman EA, et al. Inhibition of hypothalamic inflammation reverses diet-induced insulin resistance in the liver. *Diabetes*. 2012 Jun;61(6):1455-62. PubMed PMID: 22522614. Pubmed Central PMCID: 3357298.

25. Baudrie V, Laude D, Elghozi JL. Optimal frequency ranges for extracting information on cardiovascular autonomic control from the blood pressure and pulse

interval spectrograms in mice. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007 Feb;292(2):R904-12. PubMed PMID: 17038438.

26. Palma-Rigo K, Baudrie V, Laude D, Elghozi JL. Cardiovascular rhythms and cardiac baroreflex sensitivity in AT1A receptor gain-of function mutant mice. *Hypertension*. 2010;55:1507-8.

27. Lima ND, Franco JG, Peixoto-Silva N, Maia LA, Kaezer A, Felzenszwalb I, et al. *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. *European journal of nutrition*. 2013 Feb 9. PubMed PMID: 23397595.

28. Bi S, Scott KA, Hyun J, Ladenheim EE, Moran TH. Running wheel activity prevents hyperphagia and obesity in Otsuka long-evans Tokushima Fatty rats: role of hypothalamic signaling. *Endocrinology*. 2005 Apr;146(4):1676-85. PubMed PMID: 15625240.

29. Patterson CM, Dunn-Meynell AA, Levin BE. Three weeks of early-onset exercise prolongs obesity resistance in DIO rats after exercise cessation. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2008 Feb;294(2):R290-301. PubMed PMID: 17989137.

30. Stricker-Krongrad A, Cumin F, Burlet C, Beck B. Hypothalamic neuropeptide Y and plasma leptin after long-term high-fat feeding in the rat. *Neuroscience letters*. 1998 Oct 2;254(3):157-60. PubMed PMID: 10214981.

31. Bi S, Chen J, Behles RR, Hyun J, Kopin AS, Moran TH. Differential body weight and feeding responses to high-fat diets in rats and mice lacking cholecystokinin 1 receptors. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007 Jul;293(1):R55-63. PubMed PMID: 17409266. Pubmed Central PMCID: 2084469.

32. Wagener A, Schmitt AO, Brockmann GA. Early and late onset of voluntary exercise have differential effects on the metabolic syndrome in an obese mouse model. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2012 Nov;120(10):591-7. PubMed PMID: 22851188.



33. Shima K, Shi K, Mizuno A, Sano T, Ishida K, Noma Y. Exercise training has a long-lasting effect on prevention of non-insulin-dependent diabetes mellitus in Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty rats. *Metabolism: clinical and experimental*. 1996 Apr;45(4):475-80. PubMed PMID: 8609834.
34. Andreazzi AE, Scomparin DX, Mesquita FP, Balbo SL, Gravena C, De Oliveira JC, et al. Swimming exercise at weaning improves glycemic control and inhibits the onset of monosodium L-glutamate-obesity in mice. *The Journal of endocrinology*. 2009 Jun;201(3):351-9. PubMed PMID: 19297408.
35. Scomparin DX, Gomes RM, Grassioli S, Rinaldi W, Martins AG, de Oliveira JC, et al. Autonomic activity and glycemic homeostasis are maintained by precocious and low intensity training exercises in MSG-programmed obese mice. *Endocrine*. 2009 Dec;36(3):510-7. PubMed PMID: 19856134.
36. Laker RC, Gallo LA, Wlodek ME, Siebel AL, Wadley GD, McConell GK. Short-term exercise training early in life restores deficits in pancreatic beta-cell mass associated with growth restriction in adult male rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2011 Nov;301(5):E931-40. PubMed PMID: 21810930.
37. Barella LF, de Oliveira JC, Branco RC, Camargo RL, Gomes RM, Mendes FC, et al. Early exposure to a high-fat diet has more drastic consequences on metabolism compared with exposure during adulthood in rats. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2012 Jun;44(6):458-64. PubMed PMID: 22438211.
38. Mora F. Successful brain aging: plasticity, environmental enrichment, and lifestyle. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2013 Mar;15(1):45-52. PubMed PMID: 23576888. Pubmed Central PMCID: 3622468.
39. Mattson MP, Wan R. Neurotrophic factors in autonomic nervous system plasticity and dysfunction. *Neuromolecular medicine*. 2008;10(3):157-68. PubMed PMID: 18172785.
40. Shi YC, Lau J, Lin Z, Zhang H, Zhai L, Sperk G, et al. Arcuate NPY controls sympathetic output and BAT function via a relay of tyrosine hydroxylase neurons in the PVN. *Cell metabolism*. 2013 Feb 5;17(2):236-48. PubMed PMID: 23395170.

41. Armitage JA, Burke SL, Prior LJ, Barzel B, Eikelis N, Lim K, et al. Rapid onset of renal sympathetic nerve activation in rabbits fed a high-fat diet. *Hypertension*. 2012 Jul;60(1):163-71. PubMed PMID: 22647890.
42. Himeno E, Nishino K, Okazaki T, Nanri H, Ikeda M. A weight reduction and weight maintenance program with long-lasting improvement in left ventricular mass and blood pressure. *American journal of hypertension*. 1999 Jul;12(7):682-90. PubMed PMID: 10411365.
43. Moraes-Silva IC, Mostarda C, Moreira ED, Silva KA, dos Santos F, de Angelis K, et al. Preventive role of exercise training in autonomic, hemodynamic, and metabolic parameters in rats under high risk of metabolic syndrome development. *J Appl Physiol (1985)*. 2013 Mar 15;114(6):786-91. PubMed PMID: 23329818.
44. Morvan E, Lima NE, Machi JF, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC, et al. Metabolic, hemodynamic and structural adjustments to low intensity exercise training in a metabolic syndrome model. *Cardiovascular diabetology*. 2013 Jun 18;12(1):89. PubMed PMID: 23777435. Pubmed Central PMCID: 3697989.
45. Mostarda C, Moraes-Silva IC, Salemi VM, Machi JF, Rodrigues B, De Angelis K, et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. *Clinics*. 2012 Jul;67(7):815-20. PubMed PMID: 22892928. Pubmed Central PMCID: 3400174.
46. Barboza CA, Rocha LY, Mostarda CT, Figueroa D, Caperuto EC, De Angelis K, et al. Ventricular and autonomic benefits of exercise training persist after detraining in infarcted rats. *European journal of applied physiology*. 2013 May;113(5):1137-46. PubMed PMID: 23108584.
47. Mostarda C, Rogow A, Silva IC, De La Fuente RN, Jorge L, Rodrigues B, et al. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*. 2009 Jan 28;145(1-2):11-6. PubMed PMID: 19022707.
48. Silva KA, Luiz Rda S, Rampaso RR, de Abreu NP, Moreira ED, Mostarda CT, et al. Previous exercise training has a beneficial effect on renal and cardiovascular function in a model of diabetes. *PloS one*. 2012;7(11):e48826. PubMed PMID: 23144989. Pubmed Central PMCID: 3492244.

49. Agarwal D, Dange RB, Vila J, Otamendi AJ, Francis J. Detraining differentially preserved beneficial effects of exercise on hypertension: effects on blood pressure, cardiac function, brain inflammatory cytokines and oxidative stress. *PloS one*. 2012;7(12):e52569. PubMed PMID: 23285093. Pubmed Central PMCID: 3527563.
50. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain research*. 1996 Jul 8;726(1-2):49-56. PubMed PMID: 8836544.
51. Russo-Neustadt A, Beard RC, Cotman CW. Exercise, antidepressant medications, and enhanced brain derived neurotrophic factor expression. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 1999 Nov;21(5):679-82. PubMed PMID: 10516964.
52. Hasegawa A. [Innervation of skeletal muscle by the lumbar sympathetic nervous system]. *Nihon Seikeigeka Gakkai zasshi*. 1991 May;65(5):368-81. PubMed PMID: 1856535.
53. Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in neurosciences*. 2007 Sep;30(9):464-72. PubMed PMID: 17765329.

### Figure legends

**Figure 1: Food intake and body weight gain from 60 to 120 days of life and NPY expression in the hypothalamus at 120 days of life** (n = 7-13, 22-30 and 4-5, respectively). SED-NFD: sedentary rats subjected to a normal-fat diet; SED-HFD: sedentary rats subjected to a high-fat diet; EXE-NFD: exercised animals subjected to a normal-fat diet; EXE-HFD: exercised animals subjected to a high-fat diet. E: exercise

factor; D: diet factor; I: interaction between exercise and diet factors. +++p<0.001, ++p<0.01, +p<0.05 for the probability based on a two-way analysis of variance. \*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05 statistical significance of the differences between NFD and HFD, ###p<0.001 statistical significance of sedentary versus exercised animals for the probability based on a Tukey multiple comparisons test.

**Figure 2: Glucose curve (a) and area under curve (b) for glycemia evaluated during ivGTT in 120-day-old rats** (n = 18-26 per group). SED-NFD: sedentary rats subjected to a normal-fat diet; SED-HFD: sedentary rats subjected to a high-fat diet; EXE-NFD: exercised animals subjected to a normal-fat diet; EXE-HFD: exercised animals subjected to a high-fat diet. E: exercise factor; D: diet factor; I: interaction between exercise and diet factors. +++p<0.001, ++p<0.01, +p<0.05 for the probability based on a two-way analysis of variance. \*\*\*p<0.001, \*p<0.05 statistical significance of the differences between NFD and HFD, ###p<0.001 statistical significance of sedentary versus exercised animals for the probability based on a Tukey multiple comparisons test.

**Figure 3: Systolic blood pressure (a), diastolic blood pressure (b) and heart rate (c) in 120-day-old rats** (n = 7-14 per group). NFD: normal-fat diet; HFD: high-fat diet; EXE: exercised animals; SED: sedentary animals; E: exercise factor; D: diet factor; I: interaction between exercise and diet factors. +++p<0.001, ++p<0.01, ns (not significant) for the probability based on a two-way analysis of variance. \*\*\*p<0.001, \*\*p<0.01 statistical significance of the differences between NFD and HFD. ### p<0.001, ## p<0.01 statistical significance of sedentary versus exercised animals for the probability based on a Tukey multiple comparisons test.

**Figure 4: Parasympathetic (a) and sympathetic (b) nerve activity evaluated in 120-day-old rats** (n = 15-17 and 12-17, respectively, per group). NFD: normal-fat diet; HFD: high-fat diet; EXE: exercised animals; SED: sedentary animals; E: exercise factor; D: diet factor; I: interaction between exercise and diet factors. \*\*\*p<0.001 statistical significance of the differences between NFD and HFD. ### p<0.001, ##

$p < 0.01$  statistical significance of sedentary versus exercised animals for the probability based on a Tukey multiple comparisons test. +++ $p < 0.001$ , ++ $p < 0.01$ , + $p < 0.05$ , ns (not significant) for the probability based on a two-way analysis of variance.

## Tables

**Table 1-** Composition of the high-fat and normal-fat diets

<b>Ingredients (g)</b>	<b>Normal-fat diet</b>	<b>High-fat diet</b>
Cornstarch	427.5	115.5
Casein	200	200
Dextrinized starch	132	132
Sucrose	100	100
Soybean oil	40	40
Lard	0.0	312
Cellulose	50	50
Mineral Mix (AIN-93)	35	35
Vitamin Mix (AIN-93)	10	10
L-Cystine	3.0	3.0
Choline Bitartrate	2.5	2.5
Total sum (g)	1000	1000

**Table 2-** Biometric and biochemical parameters in 90- and 120-day-old rats

90-Day-Old							
Parameters	SED-NFD	EXE-NFD		P			
Retroperitoneal fat	1.44±0.06	1.17±0.07		<0.05			
Periepididymal fat	1.10±0.04	1.01±0.03		<0.05			
Fasting Glucose	103±1.9	102±2.0		=0.45			
120-Day-Old							
	120-Day-Old				Factors		
	SED-NFD	SED-HFD	EXE-NFD	EXE-HFD	E	D	I
Retroperitoneal fat	1.65±0.05	2.81±0.1	1.28±0.06	2.31±0.11	+++	+++	ns
Periepididymal fat	1.44±0.4	2.41±0.1	1.09±0.1	1.92±0.1	+++	+++	ns
Fasting Glucose	100±1.5	101.8±2.4	98.3±1.5	95.2±2.8	ns	ns	ns

SED-NFD: sedentary rats subjected to a normal-fat diet; SED-HFD: sedentary rats subjected to a high-fat diet; EXE-NFD: exercised animals subjected to a normal-fat diet; EXE-HFD: exercised animals subjected to a high-fat diet, NFD: normal-fat diet; HFD: high-fat diet; EXE: exercised animals; SED: sedentary animals; E: exercise factor; D: diet factor; I: interaction between exercise and diet factors. +++p<0.001, ns (not significant) for the probability based on an analysis of variance.

Figures  
Figure 1

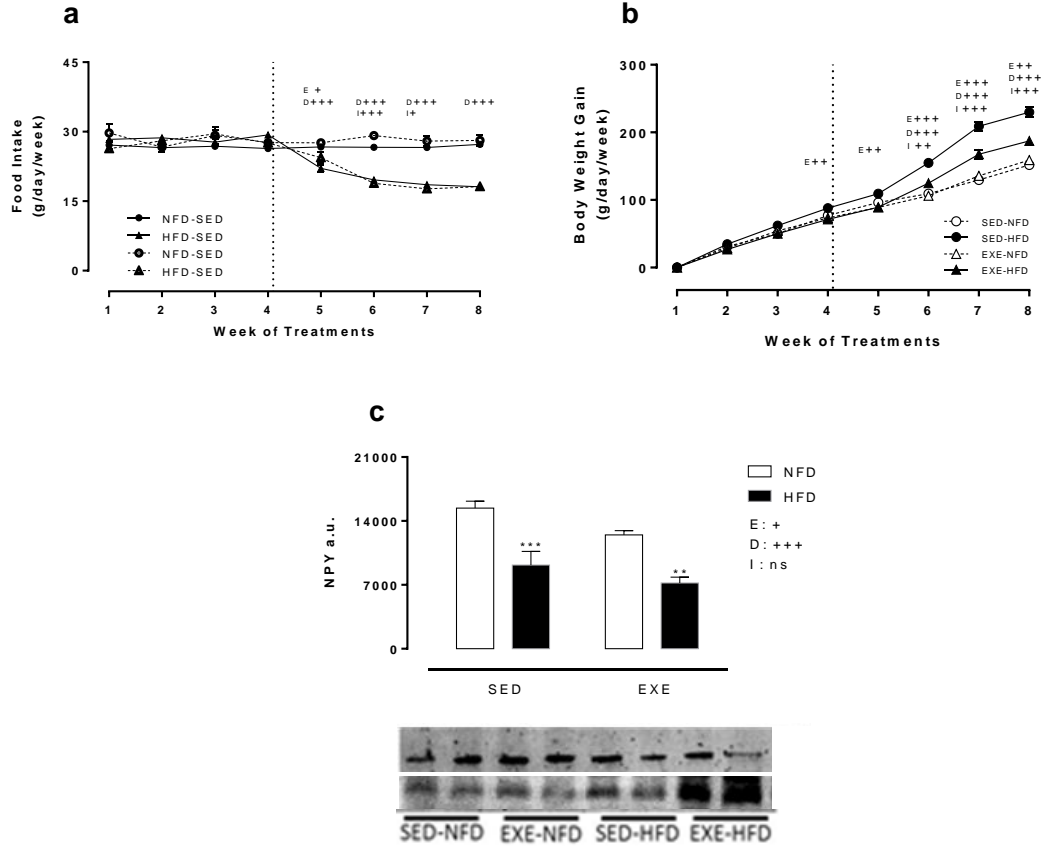




Figure 2

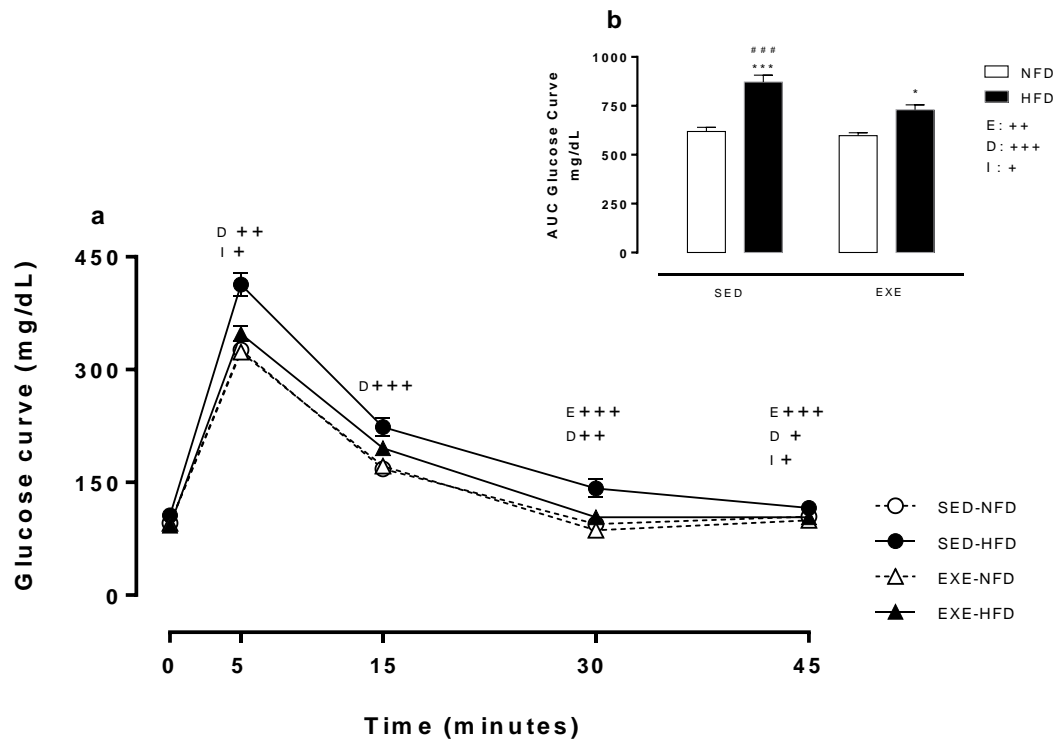


Figure 3

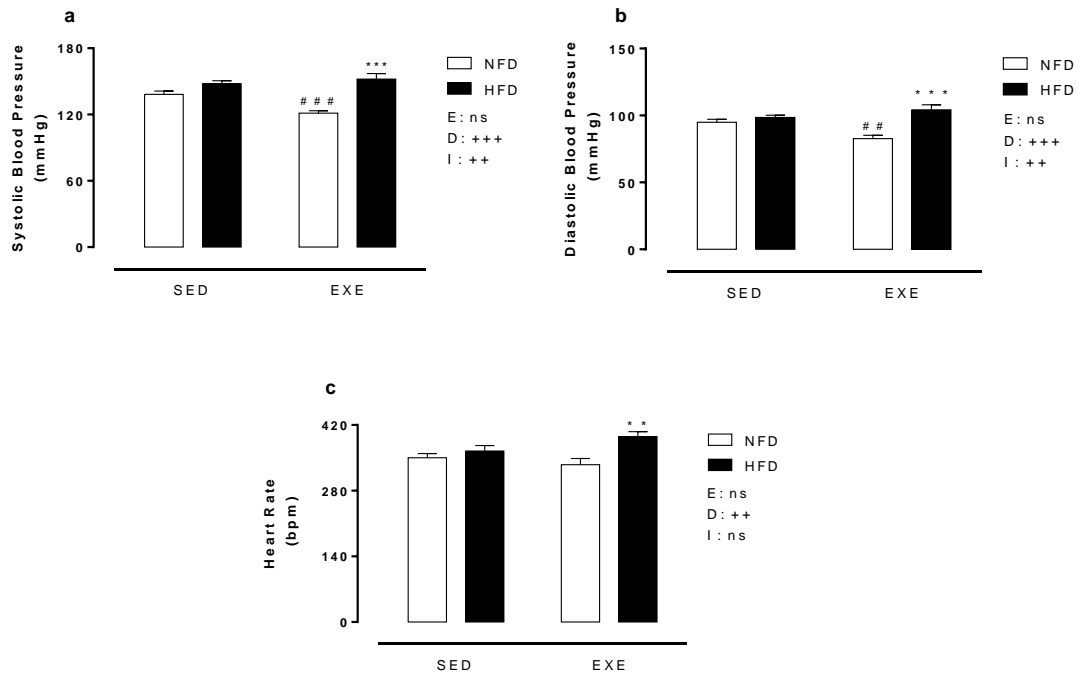


Figure 4

