

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

MAYNARA LUCCA ANDRADE

**Exercício físico de baixa intensidade
altera adiposidade da prole de 21
dias provenientes de mães
alimentadas com dieta de cafeteria**

Maringá
2014

MAYNARA LUCCA ANDRADE

**Exercício físico de baixa intensidade
altera adiposidade da prole de 21 dias
provenientes de mães alimentadas com
dieta de cafeteria**

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: Profa. Dra. Solange Marta Franzói de Moraes

Maringá
2014

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

A553e Andrade, Maynara Lucca
Exercício físico de baixa intensidade altera adiposidade da prole de 21 dias provenientes de mães alimentadas com dieta de cafeteria. -- Maringá, 2014.
59 f. ; il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Solange Marta Franzói de Moraes.
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, 2014.

1. Exercício físico. 2. Dieta. 3. Programação metabólica. 4. Tecido adiposo. I. Moraes, Solange Marta Franzói de, 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. Universidade Estadual de Londrina. IV. Título.

CDD 21.ed. 616.398

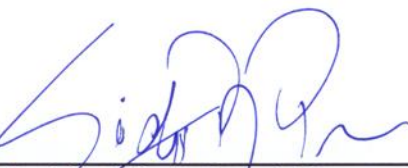
MAYNARA LUCCA ANDRADE

**Exercício físico de baixa intensidade
altera adiposidade da prole de 21 dias
provenientes de mães alimentadas com
dieta de cafeteria**

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 30 de julho de 2014.


Prof. Dr. **William Tadeu Lara Festuccia**


Prof. Dr. **Sidney Barnabé Peres**


Prof. Dra. **Solange Marta Franzói de Moraes**
(Orientadora)

Dedicatória

**À minha mãe, Rosária Lucca Andrade.
À você mãe, meu eterno amor e admiração.**

Agradecimentos

Agradeço a Deus por Sua bondade e força infinita, me fortalecendo cada vez mais diante dos obstáculos da vida.

A toda minha família, em especial minha mãe Rosária pela força de sempre, meu irmão Tharyan pela parceria eterna e ao meu pai Talmor. Obrigada por compreenderem minha ausência e sempre estarem ao meu lado nos momentos difíceis e de MUITO trabalho. Também a minha irmã, Thayane e família, pela amizade e apoio de sempre.

A minha MÃE acadêmica, Solange. Digo isso, porque ser orientadora é um mero detalhe para tudo que ela representa em minha vida. Seis anos de história até aqui. Obrigada por cada ajuda, cada sorriso sincero, cada palavra amiga, incentivo e apoio incondicional às minhas decisões. Obrigada por confiar no meu trabalho. Mais ainda, obrigada por me adotar como filha acadêmica.

Ao Sidney, meu “des-”orientador. Obrigada por todo aprendizado, apoio, amizade, toda força que SEMPRE me deu. Por também acreditar no meu trabalho. Sua presença nesse trabalho foi fundamental. E também pelas boas risadas (essenciais). OBRIGADA!!

Às professoras Cecília, Edmara, Raquel, Luzmarina e Celinha, pelo apoio em alguns momentos do trabalho, sempre acrescentando ao meu processo de aprendizagem até aqui.

Aos parceiros do Projeto Cafeteria: Byanca Thais, Rubian Ellen, Fábio, Bianca (biotec), Stéfanie (absoluta), Gustavo. Além da fundamental e imprescindível ajuda da minha cabeludinha Priscila, e parceira de projeto e mestrado Giselle, a quem devo muita gratidão por estar ao meu lado durante a jornada do Mestrado.

Aos parceiros de GEFEAH ,GETA e outros laboratórios: Mezzaroba, Danilão, Júlio (Julin mineiro), Céci, Bruno (mineiro), Francisco (mineiro), Carol, Rafa, Iohana, Nádia, Rodrigo, Fernanda, Rosi (glitazona), Gabriel (forta), Patrícia Chimin.

Aos amigos-irmãos, sem os quais a caminhada se tornaria MUITO mais pesada: Débora Guariglia, Giselle (de novo), Paulinho (irmão do coração), Juzão Jacques, Ana Cláudia, Débora Rissato, Tom, João Esteves, Aline (cumadi), Nayara, Mayra, Lidyane (meu doce limãozinho).

As técnicas da fisiologia: Elizete (mãe preta), Valéria (grandona) e Márcia (lorona). Vocês são essenciais para que nossos experimentos aconteçam. Além das melhores risadas. Muito Obrigada!!

As técnicas da histologia: Maria Eurides, Maria dos Anjos e Mary. Obrigada por toda ajuda.

Ao professor William Festuccia, por ter aceitado ao convite em ser membro da banca desse trabalho e por ser sempre tão solícito. Obrigada também pelo aprendizado em seu laboratório, fundamental para meu amadurecimento acadêmico.

Ao Felipe, pelo aprendizado na vida pessoal e profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física UEM/UEL e a CAPES por proporcionar a realização deste trabalho.

ANDRADE, Maynara Lucca. **Exercício físico de baixa intensidade altera adiposidade da prole de 21 dias provenientes de mães alimentadas com dieta de cafeteria.** Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 2014.

RESUMO

Estudos sobre a programação fetal da obesidade têm demonstrado que a nutrição materna durante a gestação promove alterações significativas relacionadas ao desenvolvimento fetal e programação metabólica, porém, pouco se sabe sobre a influência do exercício físico neste mesmo período como mecanismo protetor ou atenuador dos efeitos causados pela má nutrição materna. Assim, procuramos investigar os efeitos de uma atividade física leve sobre os danos ocasionados pela dieta de cafeteria durante a gestação e lactação sobre alterações nos parâmetros relacionados a adiposidade em filhotes machos de 21 dias. Para tal, foram utilizados filhotes machos gerados de ratas Wistar com aproximadamente 70 dias. Assim que detectada a prenhez, foi introduzida a dieta e a atividade física durante gestação e lactação. Os grupos formados foram: Filhotes Controle Sedentário (FSC), Filhotes Controle Treinado (FTC), Filhotes Cafeteria Sedentário (FSCa) Filhotes Cafeteria Treinado (FTCa). Após o desmame, aos 21 dias completos, os filhotes foram eutanasiados e tiveram os coxins adiposos coletados e pesados para análise. Os coxins periepididimal e subcutâneo foram tratados com colagenase e utilizados para o ensaio de isolamento de adipócitos. No tecido adiposo marrom foi feita análise histológica para verificarmos alterações na área do adipócito e da gotícula lipídica. Os dados obtidos em nosso modelo experimental indicam um *imprinting* relacionado a características da adiposidade, como mudanças no peso corporal da prole em função da dieta acompanhadas de alterações no peso dos coxins que também sofreram influência do exercício físico realizado. Além disso, o diâmetro dos adipócitos periepididimais sofreram um aumento significativo em FSCa e redução na celularidade, já no adipócito subcutâneo, o diâmetro apresentou aumento em FSCa e FTCa e a celularidade reduzida somente em FSCa. No tecido adiposo marrom, a área do adipócito e da gotícula lipídica de FSCa e FTCa mostraram-se maiores. Concluímos, portanto, que para os aspectos morfológicos analisados, o exercício físico praticado pelas mães durante a gestação contribuiu para melhora na celularidade dos adipócitos brancos e não conteve o efeito deletério da dieta no tecido adiposo marrom.

Palavras-Chave: exercício; dieta; programação metabólica; tecido adiposo

ANDRADE, Maynara Lucca. **Low-intensity exercise alters offspring adiposity 21 days from mothers fed the cafeteria diet.** 2014. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 2014.

ABSTRACT

Studies regarding the fetal programming of obesity have shown that maternal nutrition during pregnancy may promote significant changes related to fetal development and metabolic programming however the influence of exercise during this period as a protector attenuator of the deleterious effects caused by maternal malnutrition remain unknown. Thus, we investigated the effects of a light physical activity program on the damage caused by the cafeteria diet during gestation and lactation on changes in several parameters related to adiposity in male pups, 21 days old. To this end, we used male rats from female rats, 70 days old. At the beginning of pregnancy and throughout the whole period of exercise and lactation the female rats received the cafeteria diet. After birth, the following groups were randomly formed: Sedentary Control Pups (FSC), Trained Control Pups (FTC), Sedentary Cafeteria Pups (FSCA) and Trained Cafeteria Pups (FTCA). At weaning, 21 full days, pups were euthanized and several adipose tissue fat pads were collected and weighed. The subcutaneous and periepididymal pads were treated with collagenase and adipocytes isolated. Brown adipose tissue (BAT) histological analysis was performed in order to verify changes in the adipocyte area lipid droplet area. The data obtained in our experimental model indicate a related imprinting characteristic of adiposity, such as changes in body weight of offspring for the diet accompanied by weight changes in fat pads, which also suffered the influence of physical exercise. Furthermore, the diameter of periepididymal adipocytes increased significantly in FSCA with concomitant decrease in cellularity. On the other hand, FSCA and FTCA subcutaneous adipocytes showed an increase in diameter but a reduction on cellularity only in FSCA. In BAT, adipocyte and lipid droplet areas were higher in FSCA and FTCA. In summary, we conclude exercise performed by mothers during pregnancy contributed to the improvement in cellularity of white adipocytes but did not revert the deleterious effects of cafeteria diet on brown adipose tissue morphology.

Keywords: exercise; diet; metabolic programming; adipose tissue

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Desenho Experimental	30
Figura 2 -	Delta do peso das ratas submetidas ao protocolo. Relação entre peso corporal e adiposidade	33
Figura 3 -	Consumo alimentar total de ratas submetidas ao protocolo.....	34
Figura 4 -	Parâmetros corporais da prole.....	36
Figura 5 -	Imagem de adipócitos do coxim periepididimal; peso do coxim; diâmetro e celularidade.....	38
Figura 6 -	Imagem de adipócitos do coxim subcutâneo; peso do coxim; diâmetro e celularidade.....	39
Figura 7 -	Análises do tecido adiposo marrom	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Informações nutricionais da dieta padrão (ração)	26
Tabela 2	Cardápio semanal da dieta de cafeteria	27
Tabela 3	Informações nutricionais dos alimentos utilizados na composição da dieta de cafeteria	28
Tabela 4	Protocolo de treinamento	29
Tabela 5	Peso dos coxins adiposos das ratas submetidas ao protocolo.	32
Tabela 6	Peso corporal e peso dos coxins adiposos da prole de 21 dias.	36

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADD	do inglês, Adipocyte Determination and Differentiation – dependent factor
AP2	do inglês, Adipocyte protein 2
ATP	Adenosina Trifosfato
C/EPB	do inglês, CCAT/ Enhancer Binding Protein
CCAAT	Proteínas ligantes ao amplificador CCAAT (CCAAT/ enhancer binding proteins, C/EBPs)
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEAE	Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentações
CEFE	Centro de Educação Física e Esporte
CHOP	do inglês, C/EBP homologous protein
DEF	Departamento de Educação Física
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
GPDH	Glicerol-3-fosfato desidrogenase
HE	Hematoxilina e Eosina
IL-6	Interleucina 6
LPL	Lipase de Lipoproteína
mRNA	RNA mensageiro
PEPCK	do inglês, Phosphoenolpyruvate carboxykinase
PPAR	do inglês, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
PRDM16	do inglês, PRD1-BF-1-RIZ1 Homologous Domain-Containing Protein 16
RBP4	do inglês, Retinol Binding Protein 4
SREBP	do inglês, Sterol Regulatory Element-Binding Protein
TA	Tecido Adiposo
TAB	Tecido Adiposo Branco
TAG	Triaciglicerol
TAM	Tecido Adiposo Marrom
TNFα	Fator de Necrose Tumoral
UCP1	do inglês, Uncoupling protein 1
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UEM	Universidade Estadual de Maringá

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	03
2.1 Objetivo Geral	03
2.2 Objetivos Específicos	03
3 REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1 Epigenética e Obesidade	04
3.2 Tecido Adiposo e Adipogênese	06
3.2.1 Exercício Físico	11
4 MÉTODOS	13
5 RESULTADOS	20
6 DISCUSSÃO	30
7 CONCLUSÃO	35
8 REFERÊNCIAS	36
ANEXOS	46

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada uma epidemia global de origem multifatorial que está diretamente relacionada ao desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas, tais como as dislipidemias, hipertensão, diabetes tipo 2 e aterosclerose (FLEGAL *et al.*, 2013). O aumento da prevalência da obesidade atinge diferentes amostras populacionais, dentre estas mulheres durante o período gestacional, sendo um fator de risco materno e fetal (OBEN *et al.*, 2010).

Um ótimo corpo de evidências científicas clínicas, fisiológicas, moleculares (OBEN *et al.* 2010; BAYOL, 2010) e epidemiológicas (DABELEA, 2000) mostram que a obesidade e a síndrome metabólica podem ser determinadas (*imprinting*) ainda na fase intrauterina em função do comportamento materno quanto à sua nutrição e estilo de vida. Estudos relacionados à programação fetal da obesidade mostram que a nutrição materna durante a gestação promove alterações significativas relacionados ao desenvolvimento fetal, visto que esse período é de grande proliferação, diferenciação e maturação celular, fazendo com que o fenótipo esteja diretamente relacionado ao contexto na qual esse feto se desenvolve (ENTRINGER, 2012).

Buscando um maior entendimento acerca desses efeitos provocados pela influência da dieta das mães em sua prole, pesquisas com modelos em animais de programação metabólica fetal por meio de tratamento com dietas hipercalóricas, verificaram que os filhotes advindos de mães tratadas com dieta de cafeteria durante gestação e lactação apresentaram redução no crescimento muscular além de um aumento nos coxins adiposos, infiltração lipídica hepática e distúrbios metabólicos associados à resistência insulínica (BAYOL *et al.*, 2005, 2007, 2008, 2010; AKYOL, 2009). Além da dieta, a atividade física durante a gestação está associada a uma manutenção de peso, melhora na sensibilidade à insulina, além de reduzir os riscos de desenvolver doenças metabólicas (ARTAL, 2003; CLAPP, 2003).

Assim, apesar do grande número de estudos envolvendo a programação metabólica e seus efeitos sobre a prole, poucos são os trabalhos na literatura que abordem a influência da atividade física sobre os efeitos deletérios da dieta de

cafeteria na prole. Neste sentido, este estudo se propôs a investigar o efeito do exercício físico durante a gestação sobre os danos causados pela dieta de cafeteria nas fases de gestação e lactação sobre a adiposidade da prole. Nossa hipótese é de que o exercício físico executado pelas mães amenize os danos ocasionados pela dieta de cafeteria nos filhotes.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar os efeitos da dieta de cafeteria associada a uma atividade física leve em ratas prenhes sobre os parâmetros relacionados a adiposidade na prole de machos

2.2 ESPECÍFICOS

- Verificar as alterações no peso corporal, dos coxins adiposos e do consumo alimentar de macronutrientes das ratas submetidas ao protocolo;
- Verificar as alterações no peso corporal e dos coxins adiposos da prole de machos de 21 dias;
- Analisar o diâmetro e celularidade de adipócitos isolados no tecido adiposo subcutâneo e periepididimal da prole de machos de 21 dias;
- Avaliar a área do adipócito e da gotícula lipídica contida no adipócito do tecido adiposo marrom da prole de machos de 21 dias;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 EPIGENÉTICA E OBESIDADE

O desequilíbrio energético entre o gasto e consumo calórico exerce papel determinante na alteração do peso, sendo que um saldo positivo no consumo calórico normalmente acarretará ganho de peso corporal que poderá evoluir para um quadro de obesidade. A prevalência da obesidade tem crescido significativamente, tornando-se um grave problema de saúde pública. A obesidade influencia o aparecimento de diversos fatores de risco e doenças crônico-degenerativas, como hipertensão arterial, problemas cardiovasculares, diabetes tipo 2, dislipidemias, câncer (FLEGAL *et al.*, 2013).

A obesidade é considerada uma doença de origem multifatorial, podendo ser influenciada por fatores ambientais, comportamentais e genéticos. Os fatores ambientais parecem ser decisivos no quadro de instalação da obesidade pois influenciam a expressão de genes sem alterações em sua sequência de pares de bases. A compreensão destes mecanismos é reconhecida como epigenética. Essa análise da obesidade sobre o viés epigenético ressalta a influência do ambiente sobre as alterações na expressão de genes ligados ao fenótipo da obesidade, que já demonstram ocorrência ainda no período intrauterino, ocasionado uma programação fetal (BOUCHARD, 2010).

A epigenética está relacionada às influências ambientais sobre a expressão gênica onde ocorrem alterações hereditárias sem mudanças na sequência de DNA (WOLFFE; GUSCHIN, 2000). Em geral, existem três tipos de efeitos transmissíveis específicos: 1) aqueles decorrentes de regulação epigenética da expressão gênica, 2) os decorrentes dos efeitos do ambiente intra-uterino materno sobre o feto em desenvolvimento, e 3) os decorrentes de variação genética no genoma mitocondrial herdados maternalmente (GUO, *et al.*, 2006).

Vários genes tem sido associados ao ganho de peso que levariam ao desenvolvimento da obesidade, e entender como certos fatores modificam a expressão destes genes durante o desenvolvimento fetal e na primeira infância,

pode ajudar a explicar o rápido aumento da doença e embasar ações que ajudem a prevenir o desenvolvimento da obesidade em um número significativo de crianças (KYUNG, 2012).

O aumento na prevalência da obesidade em mulheres grávidas está relacionado ao aparecimento de sobrepeso e obesidade em suas respectivas proles, representando um fator de risco para a obesidade infantil (DESAI, 2011). Estudos apontam para importância da nutrição materna antes e durante a gestação e lactação para a programação fetal, já que um mau comportamento alimentar nesse período pode dar origem a distúrbios metabólicos e obesidade. Nesse contexto, Bayol (2005;2007;2008;2010) em seus estudos experimentais, constatou que filhotes advindos de mães que ingeriram dieta hipercalórica (cafeteria) durante a gestação e lactação, estavam mais suscetíveis a desenvolver a obesidade, além disso, os filhotes, logo após o desmame, apresentaram alterações no paladar, com o aumento de ingestão de alimentos com elevados níveis de gordura, sal e açúcar, um aumento na adiposidade, hiperinsulinemia, presença precoce de um quadro de esteatose hepática e redução no crescimento muscular.

Em outros estudos como os de Oben (2010a;2010b), filhotes provenientes de mães induzidas à obesidade por meio de dieta obesogênica antes e durante gestação e lactação, além de um aumento no peso, apresentaram fenótipo para o desenvolvimento de esteatose pancreática e hepática, aumento de triglicerídeos no pâncreas, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, aumento de IL-6, TNF- α , além de aumento no tônus do sistema nervoso simpático.

Samuelsson et al. (2008) observaram que a dieta obesogênica maternal está associada a um aumento no risco de desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares na prole. O mesmo foi encontrado em estudo de Akyol (2012), além do desenvolvimento do fenótipo para intolerância à glicose. Já Chechi (2010), ao investigar os efeitos de uma dieta maternal rica em gordura durante gestação e lactação concluiu que essa condição pode promover alterações na composição dos ácidos graxos presentes no coração e fígado. Ainda baseado nesse modelo de dieta obesogênica durante gestação e lactação, Benkalfat e colaboradores (2011), observaram alterações no metabolismo do tecido adiposo que levam a mudanças permanentes nos níveis de adipocinas, atividade enzimática das Lipoproteína Lipase (LPL) e glicerol-3-fosfato desidrogenase (GPDH) e composição de ácidos graxos.

Podemos constatar assim, que essas alterações na nutrição na fase intrauterina, aumentam significativamente o risco de desenvolvimento da síndrome metabólica e demais fatores de risco, na fase adulta, já que também nessa fase ocorrem mecanismos de regulação e desenvolvimento do tecido adiposo, com a formação dos adipócitos, por meio da adipogênese. Os adipócitos são neste contexto da expansão do tecido adiposo são os principais tipos celulares, pois tem grande capacidade de aumento no seu diâmetro ocorre principalmente nessa fase intrauterina (WABITSCH,2000).

3.2 TECIDO ADIPOSEO E ADIPOGÊNESE

O tecido adiposo pode ser caracterizado como um órgão endócrino que desempenha um papel crucial na regulação e homeostase energética. Principal reservatório energético, o tecido adiposo é constituído principalmente por adipócitos, além de uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, leucócitos, macrófagos, fibroblastos, adipoblastos e células mesenquimais multipotentes (AHIMA et al.,2000).

Os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerol (TAG) em seu citoplasma, sem que isto seja nocivo para sua integridade funcional. Elas apresentam todas as enzimas e proteínas reguladoras necessárias para sintetizar ácidos graxos (lipogênese) e estocar TAG em períodos em que a oferta de energia é abundante, e para mobilizá-los através da lipólise (KERSHAW; FLIER 2004).

Nos mamíferos existem dois tipos de tecido adiposo: o tecido adiposo branco (TAB) e o tecido adiposo marrom (TAM). O TAB, localizado em diversas regiões do organismo, oferece proteção mecânica contra choques e traumatismos, permite um deslizamento entre vísceras e músculos, além de ser um excelente isolante térmico, participando na manutenção da temperatura corporal. Com o avanço no entendimento acerca das funções fisiológicas do TAB, houve a descoberta de uma ampla gama de proteínas secretadas por estes, denominadas adipocinas (sinalizadores celulares), com atuação parácrina, autócrina e sistêmica, demonstrando sua grande importância atribuída ao seu papel endócrino (FONSECA-ALANIZ et al., 2006).

O TAB não pode ser considerado um tecido com características únicas funcionalmente, pois são na verdade distintos, dependendo da região no organismo onde são considerados. Os TAB apresentam-se distribuídos em diferentes regiões do corpo, sendo encontrados próximos aos órgãos internos presentes na cavidade peritoneal, nomeado visceral, ou distribuído sobre a pele, nomeado tecido adiposo subcutâneo. Outras regiões do corpo também apresentam tecido adiposo branco, mas estes não possuem um papel metabólico tão relevante (WAJCHENBERG et al., 2002).

O adipócito branco maduro armazena triacilglicerol (TAG) em uma única e grande gota lipídica, ocupando de 85-90% do espaço total do citoplasma, empurrando o núcleo e o citosol para a periferia da célula. São células maiores que as hemácias e fibroblastos, podendo alterar seu tamanho (volume e diâmetro), de acordo com a quantidade de TAG armazenada. Vale ressaltar que durante seu desenvolvimento, o adipócito jovem contém múltiplas gotículas lipídicas que coalescem para formar uma única gota lipídica com o amadurecimento celular (POND,2001).

Estudos tem demonstrado um papel relevante na distribuição anatômica do tecido adiposo, mostrando que as variações regionais no acúmulo de gordura são mais preditivas de anormalidades metabólicas (TCHOUKALOVA, et al. 2004; VAN HARMELEN et al. 2006). Assim, a deposição de gordura intra-abdominal ou visceral, está correlacionada a um aumento na susceptibilidade a distúrbios metabólicos, como intolerância a glicose, hiperinsulinemia, dislipidemia e hipertensão, já que essa expansão da gordura visceral pode estar associada a elevação dos níveis de ácidos graxos não esterificados na circulação, contribuindo com a resistência a insulina no fígado e músculo esquelético, bem como o prejuízo na secreção de insulina pelo pâncreas (WAJCHENBERG et al., 2000; GESTA et al., 2007). Esses achados evidenciam diferenças na função endócrina entre as regiões adiposas (ARNER,2001). Comparado ao subcutâneo, os adipócitos viscerais são relativamente resistentes à ação antilipolítica da insulina e mais sensíveis a estimulação da lipólise pelas catecolaminas, aumentando os níveis circulantes de ácidos graxos, desencadeando os sintomas da síndrome metabólica (VAN HARMELEN et al. 2006). Ainda não é totalmente claro como alguns indivíduos ganham mais gordura visceral a subcutânea, e compreender esse mecanismo pode

favorecer o entendimento acerca da obesidade e seu tratamento (TCHOUKALOVA, et al. 2004)

Já o tecido adiposo marrom (TAM), por sua vez, é caracterizado por sua distribuição multilocular de gordura, variando em cor do marrom claro ao marrom fortemente avermelhado, devido à sua alta vascularização e a elevada quantidade de mitocôndrias no tecido, nas quais os citocromos estão presentes. O adipócito marrom pode alcançar 60 µm de diâmetro, assumindo formas esféricas, fusiforme ou poligonal. Seu citoplasma é relativamente abundante e o núcleo é esférico e ligeiramente excêntrico. Diferentemente do TAB, este tecido se origina de células multipotenciais precursoras do tecido muscular, ao contrário do que se imaginava previamente. Conforme Seale et al. (2008) o regulador transcricional PRDM16, controla o destino celular de células mesenquimais, que pode ser bidirecional, formando mioblastos esqueléticos ou células de gordura marrom. O TAM é especializado na termogênese (produção de calor). É encontrado em fetos e recém-nascidos em maior quantidade e sua função termogênica advém da presença de uma proteína chamada UCP1 (NEDERGAARD et al.,2007), que se localiza na membrana interna da mitocôndria, tendo papel fundamental no desacoplamento do gradiente de prótons, diminuindo a eficiência da cadeia respiratória na produção de ATP e aumentando a capacidade para a produção de calor. Ele pode também controlar a quantidade de alimento ingerido, através do aumento da temperatura corporal interna (CASSOLLA, 2012).

A formação de novos adipócitos, denominada adipogênese, tem sido amplamente estudada *in vitro*, a fim de desvendar os mecanismos envolvidos no seu desenvolvimento e assim, permitir desenvolver estratégias terapêuticas e preventivas no excesso de tecido adiposo. O processo de adipogênese tem início antes mesmo do nascimento, tendo rápida proliferação e expansão logo após o nascimento (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; GESTA et al., 2007). A diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos é um processo temporal e sincronizado precisamente controlado, onde fatores de transcrição adipogênicos, como o PPAR γ (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma), SREPB-1c (proteína ligadora do elemento regulado por esteróis), e as C/EPB (proteínas ligantes ao amplificador CCAAT) exercem papel-chave na complexa cascata transcricional que ocorre durante o processo (FARMER,2006).

A linhagem das células adiposas deriva de células-tronco multipotentes de origem mesodérmica que possuem a capacidade de se diferenciarem em células adipogênicas, condrogênicas, miogênicas e osteogênicas (GREGOIRE et al., 1998; GESTA et al. 2007).

É no estroma do tecido adiposo que estão alojadas as células mesenquimais, que quando expostas a fatores locais produzidos por células desta matriz tornam-se pré-adipócitos, perdendo a habilidade de se diferenciarem em outros tipos celulares. Assim, estas células podem ser consideradas “comprometidas” com a linhagem adipocitária, fase essa denominada de determinação ou comprometimento. Seguindo para a próxima fase, de diferenciação terminal, os pré-adipócitos adquirem características de adipócito maduro, já com capacidade de responder à insulina e acumular gotas lipídicas, e é nessa fase que é ativada os eventos transcricionais em cascata (ROSEN & SPIEGELMAN, 2006).

A diferenciação dessas células compreende estágios altamente controlados, como a parada do ciclo celular, expansão clonal e diferenciação (eventos iniciais, intermediários e terminais), por meio da ativação de genes até então pouco expressos (QUEIROZ et al., 2009). Os eventos iniciais ocorrem pela expressão das proteínas ligantes ao amplificador CCAAT (*CCAAT/ enhancer binding proteins, C/EBPs*): C/EBP β e δ . Os C/EBPs são membros da família b-zip (domínio básico de ligação do DNA) que contém um domínio zíper de leucina necessário para a dimerização, os quais constituem 5 membros: C/EBP β , C/EBP δ , C/EBP α , C/EBP γ e CHOP. Apresentam expressão sequencial observada durante a diferenciação. As isoformas do C/EBP α , δ e β são altamente expressas no adipócito e induzidas durante a adipogênese, onde o C/EBP β e C/EBP δ são induzidos no início da adipogênese via sinalização hormonal, colaborando com outro fator de transcrição, o PPAR γ , cujo gene contém sítios para C/EBP na sua região promotora. Assim, as células, então, reiniciam o ciclo celular, sofrem divisão de forma regulada (expansão clonal), saem permanentemente do processo de ciclo celular e entram em diferenciação terminal por ativação do PPAR γ e C/EBP α , os dois reguladores centrais do processo de adipogênese (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; QUEIROZ et al., 2009; MUSRI et al., 2010).

O C/EBP α tem um papel importante na diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos no entanto, não é um sinal primário para a adipogênese, pois é induzido depois do PPAR γ , atuando juntamente com esse fator de transcrição para promover

a diferenciação e exercer um papel na manutenção do fenótipo diferenciado da célula adiposa. Juntamente com o PPAR γ , o C/EBP α se liga a região promotora e ativa genes específicos do tecido adiposo branco (TAB), incluindo enzimas e proteínas envolvidas na geração e manutenção do fenótipo do adipócito, como as relacionadas ao transporte de glicose sensível à insulina, lipólise, lipogênese, síntese e secreção de adipocinas, como a AP2 (proteína ligadora de ácidos graxos) e PEPCK (fosfoenolpiruvato carboxiquinase) (FARMER,2006; MUSRI et al., 2010).

O PPAR γ é fundamental para que ocorra a adipogênese, sendo necessário para a diferenciação, promovendo a conversão de adipoblastos em adipócitos e a transdiferenciação de mioblastos comprometidos em adipócitos. Além disso, regula muitos processos biológicos, incluindo o metabolismo lipídico, a homeostase da glicose, inflamação e aterogênese. Os PPARs (α , β e γ) são receptores nucleares e o PPAR γ possui ainda duas isoformas (PPAR γ 1 e PPAR γ 2), gerados por promotores distintos e mecanismos alternativos de *splicing*. O PPAR γ 1 é altamente expresso no TA e em menor proporção em outros tipos celulares, como os macrófagos. O PPAR γ 2 é um marcador específico do adipócito, tanto branco quanto marrom, e da diferenciação terminal, pois é requerido para a manutenção do *status* de célula diferenciada (GESTA et al.,2007). Dada a importância do PPAR γ , como papel central no desenvolvimento do adipócito, cabe ressaltar que ele é alvo de drogas para o controle de distúrbios metabólicos associados à obesidade (PALOU et al.,2000).

A proteína SREBP é outro fator de transcrição com importante papel na adipogênese, sensibilidade insulínica e homeostase de ácidos graxos. A família do SREBP é composta por dois subtipos: SREBP-1 e SREBP-2. Destes, existem ainda duas isoformas do SREBP-1 (1a e 1c), que são controladas independentemente por regiões regulatórias que respondem de maneira diferente a fatores orgânicos e metabólicos específicos. O fator de determinação e diferenciação dependente do adipócito (ADD1) é homólogo a isoforma SREBP-1c de humanos. O SREBP-1c /ADD1 é predominantemente expresso no fígado, glândula adrenal, TA, e músculo esquelético, já o SREBP-1a, no baço. O SREBP-2 tem como papel principal, controlar a biossíntese de colesterol. *In vitro*, o SREBP-1c/ADD1 aumenta a atividade transcricional do PPAR γ , elevando o recrutamento de células submetidas a diferenciação (KIM et al., 1998)

3.3 EXERCÍCIO FÍSICO

O exercício físico como prática diária é reconhecidamente um fator importante de manutenção de saúde, promovendo benefícios quanto à manutenção da homeostase corporal e reduzindo o risco de doenças metabólicas (BARBALHO, 2011). Além disso, o exercício físico, juntamente com uma nutrição adequada, mostra-se eficaz no tratamento e prevenção da obesidade, pois a prática regular do exercício acentua a utilização dos ácidos graxos como substrato para a produção de ATP, contribuindo para a eliminação de gorduras principalmente localizadas no tecido adiposo branco além de, simultaneamente, favorecer a manutenção ou aumento de massa muscular.

Paralelamente a isso, o exercício físico não influencia somente no tratamento da obesidade, possui também uma relação de transmissão de informação genética e interferência na adiposidade de sua prole. Há indícios de que os pais podem iniciar a transmissão intergeracional da obesidade atrelada com doenças metabólicas, provocadas direta ou indiretamente, por meio de um estilo de vida sedentário e alimentação com alto teor de gordura. Certos alelos associados com a obesidade são herdados dos pais, diante disso, exposições ambientais parentais podem também afetar o fenótipo da prole, com potencial para contribuir para o rápido aumento da obesidade (BOUCHARD, 2009).

Nahas (1999) observa que crianças de pais não-obesos possuem 10% de chance de se tornarem obesos, quando um dos pais for obeso a chance é de 40%, e quando mãe e pai forem obesos, a chance sobe para 80%. O exercício físico, dieta e genótipo interagem de modo complexo, e por mais que se modifique o ambiente, os genes parecem ter papel significativo na determinação da longevidade, risco de doenças, potencial atlético e tendência à obesidade.

Durante o período gestacional, o exercício físico, notadamente também mostra-se importante para beneficiar mãe e filho, promovendo a manutenção de peso da mãe, além de melhorar a capacidade aeróbia e ativar a circulação sanguínea que conseqüentemente afetará o fornecimento de nutrientes para o feto (CLAPP, 2013). O estilo de vida adotado pela mãe fisicamente ativa durante a gestação pode promover alterações fisiológicas no filho, como uma melhora na atividade cerebral (PARNPIANSIL, 2003), diminuição no percentual de gordura ao

nascimento (CLAPP;CAPELESS,1990), além de promover uma melhor homeostase glicêmica e sensibilidade à insulina até a vida adulta desses filhotes (CARTER,2012; 2013).

Os benefícios promovidos pelo exercício físico durante as fases de desenvolvimento do feto e do neonato pode ser considerado uma importante ferramenta não-farmacológica no combate ao desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis, já que altera os níveis de hormônios e nutrientes no plasma, além de influenciar atividades a nível cerebral, incluindo funções hipotalâmicas, resultando em ajustes nas funções de metabolismo energético e consequente controle de peso corporal (DRAGANSKI, 2008). Além disso, o exercício durante a gestação e lactação inibe os danos causados pelo aumento nos níveis de glicose e insulina, e demais fatores associados ao desenvolvimento da síndrome metabólica (VEGA, 2013).

Com isso, a relação do exercício físico, a programação metabólica e a epigenética se aproximam cada vez mais, já que evidências mostram que fatores ambientais e de estilo de vida, como o próprio exercício físico, podem influenciar mecanismos epigenéticos, como a metilação do DNA, modificações de histonas e expressão de microRNAs, modulam a expressão de diferentes proteínas e por consequência promove a alteração do metabolismo de diversos tecidos e órgãos do organismo (TORRES; BACCARELLI; BOLLATI, 2011).

4 MÉTODOS

4.1. Animais

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentações da Universidade Estadual de Maringá (CEAE – UEM) (Protocolo nº 022/2010) (ANEXO I).

Neste estudo utilizamos filhotes machos de 21 dias de vida gerados de ratas da linhagem Wistar com aproximadamente 70 dias de vida. Para a obtenção dos filhotes, as ratas oriundas do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá foram alocadas em caixas com ratos machos para acasalamento, numa proporção de 3 fêmeas para cada macho. Diariamente foi feito o ciclo estral das ratas, por meio do esfregaço vaginal, até que se detectasse a presença de espermatozóides no material coletado, considerando assim o primeiro dia de prenhez. Essas ratas prenhes foram separadas e tiveram sua dieta controlada durante toda sua gestação e lactação. Após o nascimento dos filhotes gerados por essas ratas, padronizamos a ninhada durante o período de lactação com 7 a 8 animais. Os filhotes fêmeas eram mantidos à ninhada, caso fosse necessário completar o número padronizado de filhotes, somente durante a lactação, sendo posteriormente direcionadas essas fêmeas a outros pesquisadores.

Todos os animais envolvidos na pesquisa foram mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas submetidos à fotoperíodo (12 horas claro/12 horas escuro) e temperatura (23 °C) controlados.

4.2. Dieta alimentar

Para o grupo controle, foi oferecida a dieta padrão através da ração *Nuvilab*[®] (com composição seguindo as recomendações do National Research Council e National Institute of Health-USA para alimentos de ratos de laboratório) e água *ad libitum* (tabela 1).

Tabela 1. Informações nutricionais da dieta padrão (ração).

	Unidade	Quantia por kg de ração
Vitamina A	UI	12000
Vitamina D3	UI	1800
Vitamina E	mg	30
Vitamina K3	mg	3
Vitamina B1	mg	5
Vitamina B2	mg	6
Vitamina B6	mg	7
Vitamina B12	mcg	20
Niacina	mg	60
Ácido pantotênico	mg	20
Ácido Fólico	mg	1
Biotina	mg	0,05
Colina	mg	600
Umidade	%	12,5
Proteína Bruta	%	22
Extrato etéreo	%	4
Material mineral	%	10
Matéria fibrosa	%	8
Cálcio	%	1,4
Fósforo	%	0,8
Valor Calórico	Kcal	3,285,00
Carboidrato	g	500
Lipídios	g	45
Proteínas	g	220

Fonte: Nuvital Nutrientes S/A

A dieta de cafeteria foi introduzida às ratas assim que detectada a prenhez, sendo constituída de alimentos como bolacha recheada, bolacha waffer, salsicha, mortadela, chips sabor queijo e sabor bacon, pão francês, ração padrão e refrigerante tipo cola e guaraná, disponibilizados conforme a quantidade consumida (tabela 2) e os cálculos para o valor calórico e composição de cada alimento foram obtidos dos valores informados pelos fabricantes dos produtos nas respectivas embalagens (tabela 3).

Tabela 2. Cardápio semanal da dieta de cafeteria.

Dias da semana	Alimentos
Segunda-feira	Mortadela, chips de <i>bacon</i> , bolacha waffer,ração, água, refrigerante de cola
Terça-feira	Salsicha, chips de queijo,bolacha recheada,ração, água, refrigerante de guaraná
Quarta- feira	Chocolate,bolacha waffer, pão francês, ração, água, refrigerante de cola
Quinta-feira	Mortadela, chips de <i>bacon</i> , bolacha waffer,ração, água, refrigerante de cola
Sexta-feira	Salsicha, chips de queijo,bolacha recheada,ração, água, refrigerante de guaraná
Sábado e domingo	Salsicha, chips de queijo,bolacha recheada,ração, água, refrigerante de guaraná

Tabela 3. Informações nutricionais dos alimentos utilizados na composição da dieta de cafeteria.

100g do alimento	Kcal	Carboidratos (g)	Proteínas (g)	Gordura Total (g)	Gordura Saturada (g)	Colesterol (mg)	Fibra Alimentar (g)	Cálcio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (g)
Salsicha	226,2	5	12,4	17,4	4	nd	nd	139	37	0,96
Chocolate	541,2	60	2,4	32,4	27,2	nd	3,2	nd	nd	0,26
Mortadela	167,5	7,5	17,5	7,5	6,1	82,2	nd	180	2	1,2
Chips Bacon	482	56	6	26	9,6	nd	0	0	0	1,2
Bolacha Wafer	521,2	63	4,3	28	8,3	nd	0	nd	nd	0,2
Chips Queijo	340,3	60	6,4	6,7	1,6	nd	0	nd	nd	1
Bolacha Recheada	555,2	63	8,3	22	8	nd	2,6	nd	nd	2,25
Pão Francês	276,8	50,7	9,5	4	nd	0	3	111	3	0,6
Refrigerante Cola (mL)	44	11	0	0	0	0	0	0	0	0,11
Refrigerante Guaraná (mL)	38,5	9,5	0	0	0	0	0	0	0	0,1
Ração	328,5	50	22	4,5	0	0	12	1400	5	0

Fonte: Informação nutricional retirada das embalagens dos alimentos. * nd = não demonstrado

4.3. Treinamento Físico

O protocolo de exercício físico ocorreu em esteira rolante (Inbrasport, Porto Alegre – RS) e foi aplicado nas ratas prenhes, sendo iniciado concomitantemente à dieta.

As ratas fizeram uma adaptação pré-prenhez de uma semana com duração de 10 minutos por sessão de treino a uma velocidade de 0,4 km/h nos três primeiros dias e a 0,6 km/h nos 4 dias seguintes.

O treinamento foi realizado durante a gestação das ratas, com incremento de velocidade a cada 5 dias, nos 15 primeiros dias, e com decréscimo de incremento do 15° ao 18° dia de gestação, sendo que após esse período foi cessado o treinamento (tabela 4). O tempo de treino diário foi de 30 minutos. Além disso, por ser um protocolo em período gestacional, o treinamento apresentou uma sequência decrescente para não prejudicar a gestação das ratas:

Tabela 4. Protocolo de treinamento adaptado de AKSU (2012).

Dia	Velocidade (km/h)	Tempo (minutos)
1° ao 5°	0,4	30
6° ao 10°	0,5	30
11° ao 15°	0,6	30
16° ao 18°	0,4	30

4.4. Grupos Experimentais

Baseado no consumo de dieta de cafeteria ou dieta controle durante a gestação e lactação e da realização ou não de exercício físico aeróbio somente durante a gestação, formaram-se os seguintes grupos:

Grupo 1 (n=22): Filhotes (21 dias) de mães alimentadas com dieta controle durante a gestação e lactação, sem treinamento físico (FSC);

Grupo 2 (n=21): Filhotes (21 dias) de mães alimentadas com dieta controle durante a gestação e lactação, com treinamento físico durante a gestação (FTC);

Grupo 3 (n=20): Filhotes (21 dias) de mães alimentadas com dieta de cafeteria durante a gestação e lactação, sem treinamento físico (FSCa);

Grupo 4 (n=21): Filhotes (21 dias) de mães alimentadas com dieta de cafeteria durante a gestação e lactação, com treinamento físico durante a gestação (FTCa);

4.5. Caracterização dos animais

Assim que os filhotes completaram 21 dias, em estado de jejum, foram anestesiados com administração de mistura de cetamina e xilazina (0,1mL a cada 100g de peso corporal, via intramuscular) para efetuar a punção cardíaca para coleta de sangue, seguida de laparotomia mediana para coleta dos tecidos. Posteriormente os animais foram submetidos à eutanásia após secção do músculo diafragma.

Foram coletados os tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, marrom, periepídídimo e subcutâneo, imediatamente pesados e clampeados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80 °C.

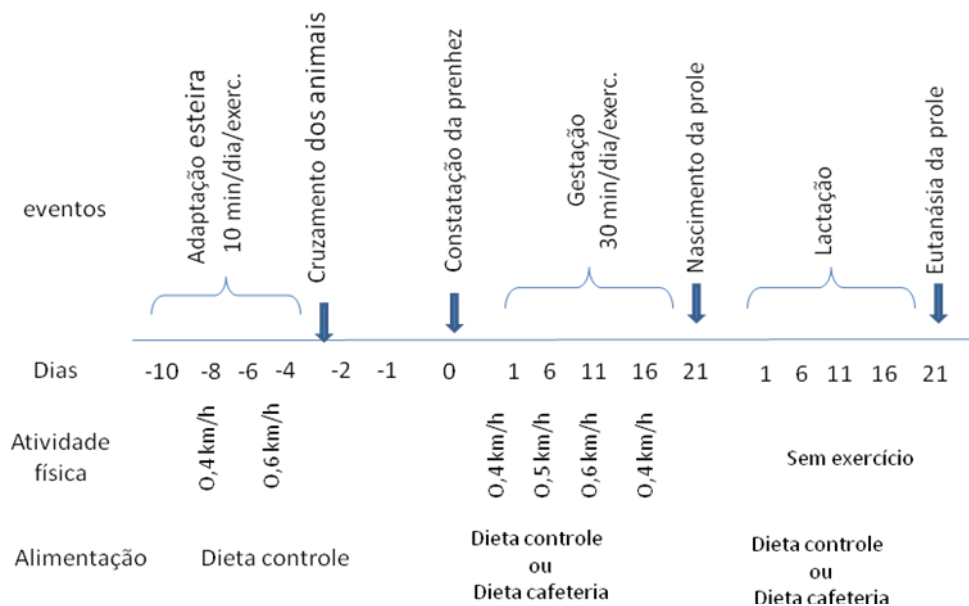


Figura 1. Desenho Experimental

4.6. Análise histológica do tecido adiposo marrom

Amostras de tecido adiposo marrom foram fixadas em *bouin*, desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos semiseriados de 6 µm de espessura, posteriormente corados com Hematoxilina e Eosina (H.E.), para análise da morfologia geral do tecido. As imagens foram capturadas em objetiva de 20x (Nikon Eclipse E110). Para a análise da área dos adipócitos e espaço total ocupado pelas gotículas, foi utilizado o programa Image Pro-Plus 4.1[®].

4.7. Isolamento dos adipócitos

Amostras dos tecidos adiposos subcutâneo e periepididimal foram utilizados para realização da técnica de isolamento dos adipócitos (modificado de RODBELL, 1964). Amostras de cada animal foram colocadas em 4 mL de tampão digestivo (DMEM / HEPES 25 mM, soro albumina bovina fração V (BSA) a 4%, colagenase II 1,25 mg/ml, pH 7,4 a 37°C). Em seguida as amostras foram fragmentadas com tesoura fina e incubadas por 30 minutos (37°C). Após a digestão, a amostra foi filtrada, lavada três vezes com 25 ml de tampão HEPES 20 mM contendo BSA a 1%, piruvato de sódio 1 mM, sem glicose, pH 7,4 e mantido a 37°C (tampão EARLE/HEPES/BSA). Após lavagem, a suspensão celular foi colocada em lâmina histológica e realizada a análise morfométrica através da mensuração aleatória do diâmetro e da área de 100 adipócitos/rato, pelo sistema de análise de imagem (Image-Pro Plus 4.5 – Media Cybernetics[®]). As imagens foram capturadas em objetiva de 40x (Nikon Eclipse E110).

4.8 Análise estatística

Foi utilizada a estatística descritiva para análise dos dados. As variáveis foram apresentadas em média ± erro-padrão da média (EPM). Para comparação entre os diferentes grupos foi realizado a análise de variância (ANOVA *One-Way*) com *post-hoc* de *Tukey*. As análises foram realizadas mediante os programas *Microsoft Office Excel* e *GraphPad Prism 5.0*. A significância adotada foi de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1. Parâmetros analisados nas mães

5.1.1. Peso dos coxins; ganho de peso; relação entre peso corporal e adiposidade

Quando analisamos as alterações quanto ao peso das ratas, temos que o delta do ganho de peso, assim como a relação entre o peso corporal e a adiposidade das ratas, apresentou efeitos mais expressivos somente influenciados pela dieta (figura 2). Na tabela 5, podemos observar que o peso dos coxins periovariano e periuterino apresentaram um aumento nos grupos submetidos à dieta de cafeteria (SCa e TCa) quando comparados ao grupo de dieta padrão (SC e TC). Os demais depósitos de gordura sofreram alterações influenciadas tanto pela dieta quanto pelo exercício, onde observamos principalmente que o coxim retroperitoneal diminuiu no grupo submetido à dieta acompanhada de exercício (TCa), mostrando um possível efeito protetor quanto ao dano causado pela dieta de cafeteria. O mesmo ocorreu quando analisamos o efeito desse protocolo sobre o somatório dos depósitos viscerais.

Tabela 5. Peso dos coxins adiposos das ratas submetidas ao protocolo de exercício..

	SC	Sca	TC	Tca
Retroperitoneal (g)	0,7338 (0,08) ^a	3,74 (0,11) ^b	1,1 (0,08) ^c	2,75 (0,04) ^d
Periovariana (g)	0,5036 (0,15) ^a	2,74(0,2) ^b	0,92 (0,17) ^a	2,73 (0,42) ^b
Mesentérica (g)	2,42 (0,12) ^a	3,05 (0,38) ^{ab}	1,89 (0,11) ^{ac}	2,45 (0,27) ^a
Subcutânea (g)	3,973 (0,50) ^a	5,71 (0,99) ^{ab}	3,26 (0,55) ^{ac}	3,81 (0,78) ^a
Periuterina (g)	0,8172 (0,20) ^a	4,55 (0,17) ^b	1,61 (0,10) ^a	4,16 (0,31) ^b
Marrom (g)	0,1311(0,04) ^a	0,31 (0,06) ^b	0,32 (0,08) ^b	0,27 (0,04) ^{ab}
Somatório Gorduras Viscerais (g)	4,4805 (0,15) ^a	14,08 (0,82) ^b	5,51 (0,13) ^a	12,09 (0,41) ^c

Valores expressos em média e EPM. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas, em que $p \leq 0,05$.

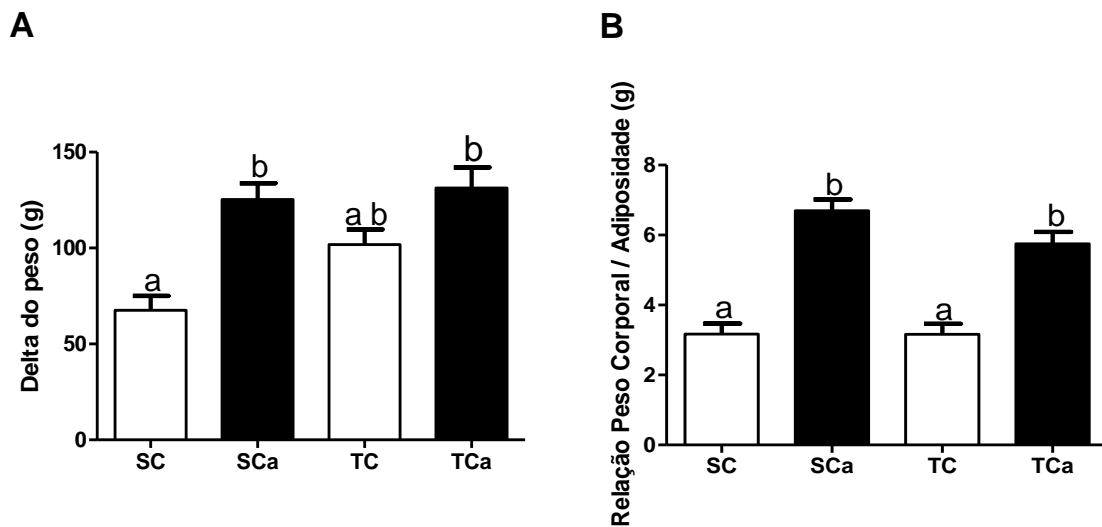


Figura 2. Delta do peso das ratas submetidas ao protocolo (A). Relação entre o peso corporal e a adiposidade de ratas submetidas ao protocolo (B). Resultados expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$.

5.1.2. Ingestão alimentar em gramas e quilocalorias

O aumento na adiposidade observado nas ratas submetidas à dieta de cafeteria pode estar relacionado ao maior consumo de lipídios em gramas, cerca de 160% superior no grupo SCa e 189% maior no grupo TCa, em relação ao grupo SC, e conseqüente aumento no valor calórico lipídico já que os grupos que ingeriram essa dieta apresentaram maior adiposidade (Figura 3).

Ao analisarmos o percentual de consumo, em gramas, dos outros macronutrientes, observamos que houve um aumento de 20% no consumo de carboidratos do grupo SCa e de 14,4% do grupo TCa em comparação ao grupo SC. Já o consumo de proteínas apontou para uma diminuição de 18,7% no grupo SCa e de 25% no grupo TCa.

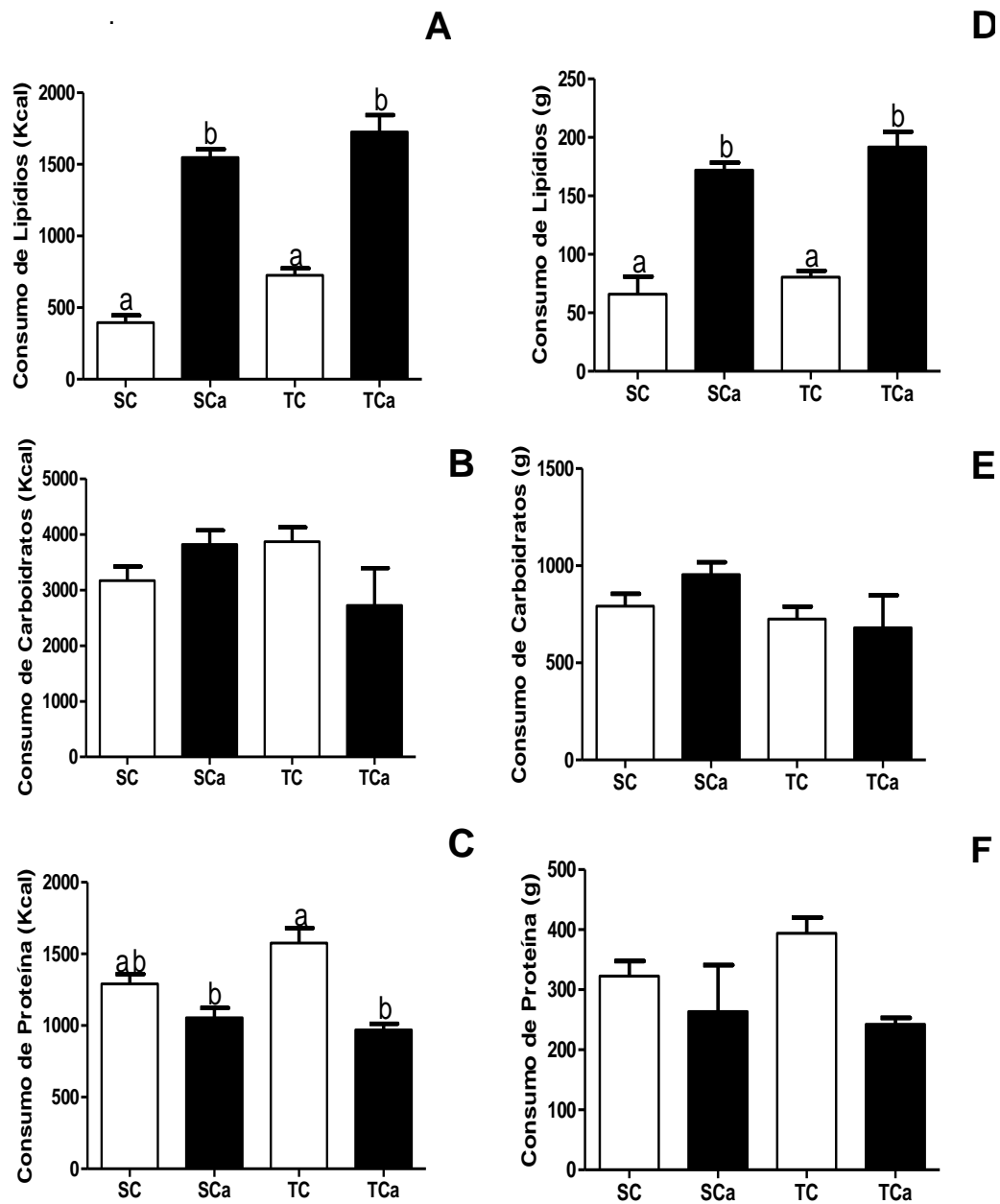


Figura 3. Consumo alimentar total de ratas submetidas ao protocolo. Consumo em quilocaloria de lipídios (A), carboidratos (B) e proteínas (C). Consumo alimentar total, em gramas, de lipídios (D), carboidratos (E) e proteínas (F). Resultados expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas.

5.2. Parâmetros analisados na prole

5.2.1. Peso corporal, peso dos coxins, ganho de peso e relação entre peso corporal e adiposidade

A partir dos dados obtidos das ratas durante a gestação e lactação, buscamos observar se houve transmissão de parte das características maternas acima descritas à sua prole (*imprinting*), focando nossas análises a características relacionadas à adiposidade desses filhotes após o desmame.

Deste modo, na análise de peso corporal e peso dos coxins adiposos da prole (Tabela 6), podemos observar que de maneira geral, a dieta e o exercício afetaram a adiposidade da prole. A dieta de cafeteria promoveu um aumento de tecido adiposo em ambos os grupos cafeteria (FSCa e FTCa) para todos os coxins adiposos, exceto o tecido adiposo marrom. Além disso, a atividade física praticada pelas mães também promoveu alterações nos depósitos de gordura dos filhotes. O peso dos filhotes apresentou um aumento significativo tanto para os grupos de mães exercitadas (FTC) quanto submetidas a dieta (FSCa) e ainda na associação da dieta e exercício (FTCa) em relação ao grupo controle sedentário (FSC). Os coxins retroperitoneal e subcutâneo mostraram-se aumentados na prole dos grupos cafeteria (FSCa e FTCa) quando comparados aos grupos controle (FSC e FTC).

Além disso, notamos um aumento contundente no peso dos coxins no grupo FTCa, apontando que a associação entre a dieta e exercício promoveu um aumento mais expressivo. Na Figura 4, em A, quando analisamos o ganho de peso a cada cinco dias de vida da prole, observamos que ao quinto e ao décimo dia, somente os pares controle apresentaram diferença no ganho de peso (FSC e FTC), porém ao vigésimo primeiro dia, todos os grupos (FTC, FSCa e FTCa) mostraram um ganho de peso maior que o do grupo controle sedentário (FSC). Outro dado interessante que vale ressaltar, é o da relação entre o peso corporal e a adiposidade (Figura 4, em B) que apresentou o mesmo padrão mostrado pelas mães, em que os grupos cafeteria (FSCa e FTCa) apresentaram um aumento na adiposidade em relação aos controle (FSC e FTC), indicando uma transmissão de características das mães para sua prole.

Tabela 6. Peso corporal e peso dos coxins adiposos da prole de 21 dias.

	FSC	FSCa	FTC	FTCa
Peso corporal (g)	42.53 (0.90) ^a	49.32 (0,58) ^b	50.60 (0,67) ^b	54.02 (0.67) ^c
Periepididimal (g)	0.0547 (0.002) ^a	0.0733 (0.003) ^b	0.105 (0.003) ^c	0.117 (0.006) ^b
Retroperitonal (g)	0.0564 (0.004) ^a	0.0611(0.007) ^b	0.167(0.005) ^a	0.214 (0.008) ^c
Subcutânea (g)	0.367 (0.020) ^a	0.398 (0.020) ^b	0.520 (0.010) ^a	0.798 (0.030) ^c
Mesentérica (g)	0.227 (0.009) ^a	0.284 (0.009) ^b	0.278 (0.009) ^b	0.298 (0.010) ^b
Marrom (g)	0.129 (0.004) ^a	0.133 (0.007) ^a	0.140(0.008) ^a	0.167 (0.005) ^b

Valores expressos em média e EPM. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas em que $p \leq 0,05$. Σ = somatório.

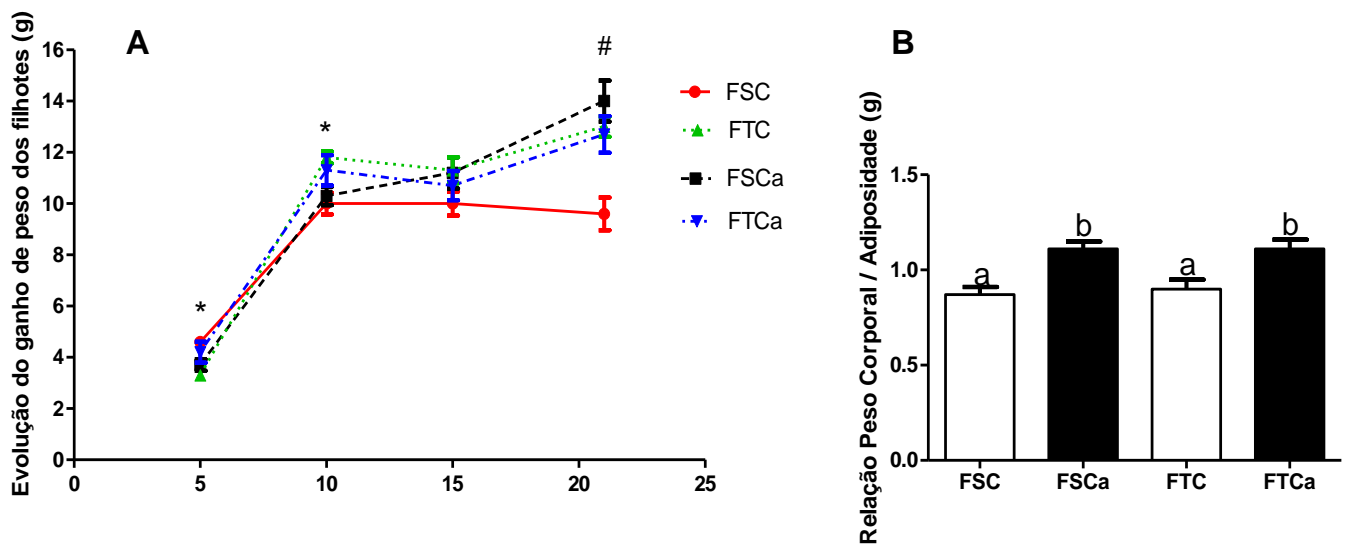


Figura 4. Parâmetros corporais da prole. Em (A), temos a evolução do ganho de peso da prole do nascimento ao 21^o dia. Em B, temos a relação entre o peso corporal e a adiposidade da prole de 21 dias (B). Valores expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$. * indica a diferença estatística encontrada entre os grupos FSC e FTC, # representa a diferença do grupo FSC em relação aos demais grupos.

5.2.2. Isolamento de adipócitos

Na figura 5 analisarmos mais detalhadamente dois depósitos de gordura (periepididimal e subcutâneo) por meio do isolamento de adipócitos, constatamos que no depósito visceral (coxim periepididimal) o grupo sedentário cafeteria (FSCa) apresentou um diâmetro maior ao compararmos com os demais (FSC, FTC e FTC), mostrando um possível efeito benéfico do exercício no aumento desse diâmetro no grupo FTCa. Ao mensurarmos a celularidade estimada nesse depósito observamos uma diminuição no número de adipócitos do grupo FSCa em relação aos grupos controle (FSC e FTC) e ao grupo treinado cafeteria (FTCa). Já para o coxim subcutâneo (figura 6), os dados obtidos mostraram-se diferente do encontrado no periepididimal, em que o diâmetro dos adipócitos apresentou um aumento em ambos os grupos cafeteria (FSCa e FTCa) em relação aos grupos de dieta controle (FSC e FTC). Porém, ao analisarmos a celularidade desse depósito, notamos que somente o grupo sedentário cafeteria (FSCa) apresentou uma diminuição acentuada perante os demais grupos (FSC, FTC e FTCa), mostrando um possível efeito benéfico do exercício a ação deletéria da dieta.

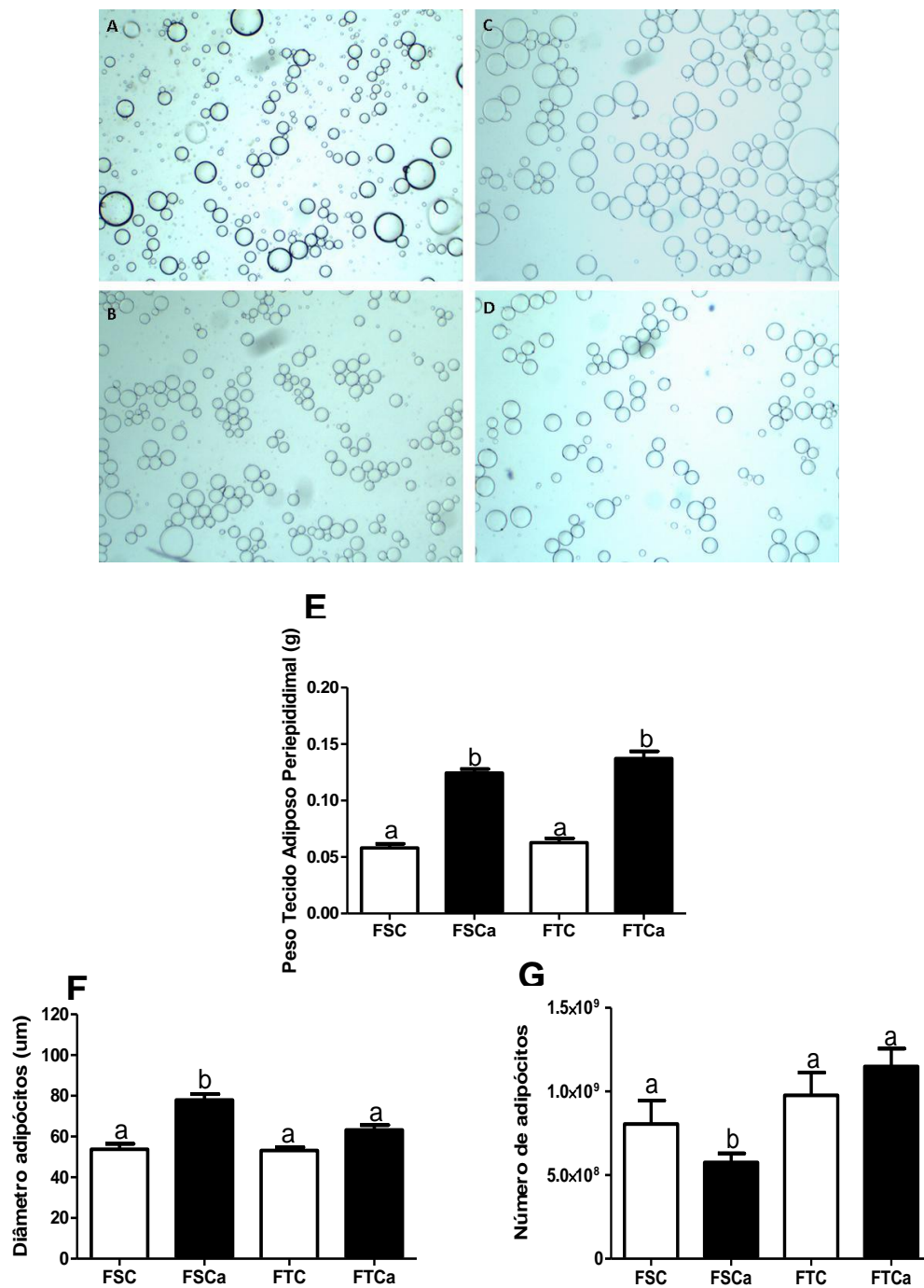


Figura 5. Imagem de adipócitos do coxim periepididimal da prole de 21 dias, isolados e capturados na objetiva de 40x. Adipócitos do grupo FSC (A), FTC (B), FSCa (C) e FTCa (D). Peso do coxim periepididimal da prole de 21 dias (E), seguidos do diâmetro dos mesmos adipócitos (F) e celularidade (G). Valores expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$.

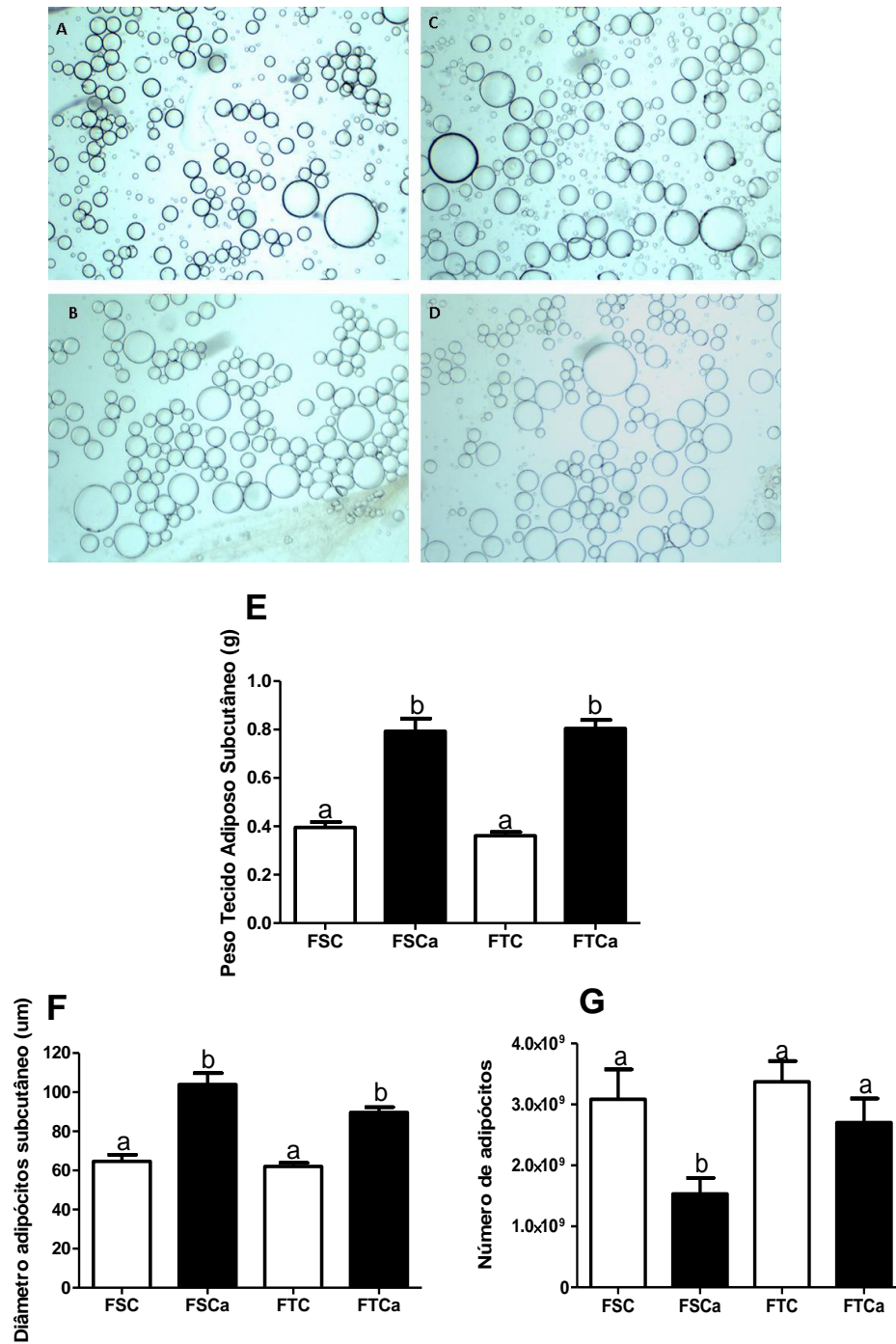


Figura 6. Imagem de adipócitos do coxim subcutâneo da prole de 21 dias, isolados e capturados na objetiva 40X. Adipócitos do grupo FSC (A), FTC (B), FSCa (C) e FTCa (D). Peso do coxim subcutâneo da prole de 21 dias (E), seguidos do diâmetro dos mesmos adipócitos (F) e celularidade (G). Valores expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$.

5.2.3. Histologia do Tecido Adiposo Marrom

Após a análise de coxins adiposos brancos oriundos de diferentes regiões, decidimos avaliar o efeito da dieta de cafeteria sobre a morfologia do tecido adiposo marrom interescapular. Para tal, medimos a área dos adipócitos bem como o tamanho médio das gotículas, onde observamos que a dieta de cafeteria consumida pelas mães foi capaz de promover um aumento tanto na área quanto no aumento do espaço ocupado pelas gotículas de gordura dos adipócitos desse depósito nos filhotes (FSCa e FTCa), e que o exercício, nesse tipo de análise, não mostrou eficiência para reverter o quadro deletério da dieta (Figura 7).

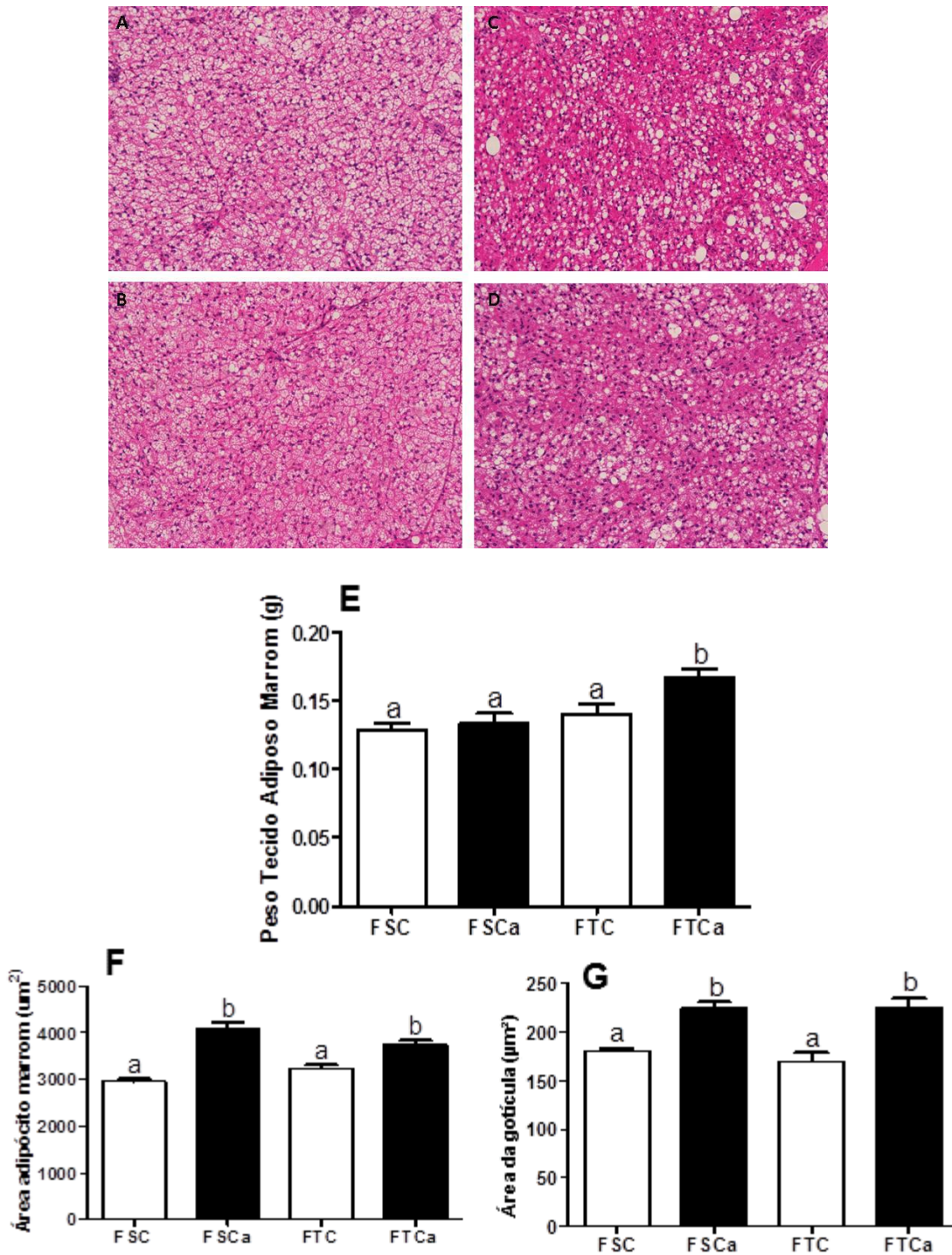


Figura 7. Análise do tecido adiposo marrom. Fotomicrografias do TAM corada com hematoxilina e eosina, capturadas em objetiva de 20X. Adipócitos de FSC (A), FTC (B), FSCa (C), FTCa (D). Peso do tecido adiposo marrom (E), área do adipócito de TAB (F) e área da gotícula lipídica (G). Valores expressos em média e EPM, em que $p \leq 0,05$.

6 DISCUSSÃO

O interesse acerca da programação fetal e seus mecanismos vêm se mostrando crescente entre os mais diversos grupos de pesquisadores (BARKER, 1998; NATHANIELSZ, 2013; TURDI, 2013; MATHIAS, 2014). O foco principal tem sido investigar o ambiente na qual as mães são expostas, como estilo de vida e nutrição adotada, e a transmissão desencadeada por esses fatores aos seus descendentes como um grande risco de desenvolver distúrbios metabólicos e doenças crônicas na idade adulta (BAYOL et al., 2005).

Nenhum estudo foi encontrado com uso da dieta de cafeteria em ratas prenhes com a inserção da atividade física durante gestação em que se buscou analisar alterações relacionadas à adiposidade e, mais especificamente, a morfologia do tecido adiposo. Assim, buscamos investigar a relação entre esses dois fatores em ratas prenhes e o poder de transmissão destas características a sua prole. Os dados obtidos pelo nosso estudo apontam para um importante “*imprinting*” metabólico em função da dieta e também do exercício físico durante a fase de desenvolvimento fetal e neonatal em características relacionadas a adiposidade.

O consumo materno de dieta de cafeteria modificou alguns parâmetros relacionados à adiposidade na prole e a atividade física leve pareceu atenuar os efeitos deletérios da dieta. Quando analisamos os dados referentes ao aumento na celularidade dos adipócitos no grupo das mães que receberam a dieta e realizaram o programa de atividade física, esses resultados demonstram a eficiência do nosso modelo experimental no *imprinting* da prole.

A exposição a dieta obesogênica durante a gestação e lactação já mostrou em estudos anteriores alterar a composição corporal de ratas (AKYOL, 2009) e que este fenótipo é transmitido à sua prole (BAYOL, ano). Vale ressaltar que assim como em nosso estudo, outros também constataram que a dieta de cafeteria apresenta um alto teor lipídico quando comparado a uma dieta padrão (BAYOL, 2007; AKYOL, 2009). A opção pela utilização da dieta de cafeteria é em função desta se aproximar do padrão alimentar dos humanos, geralmente relacionado a uma alta ingestão de comida

processada, rica em gorduras, sal e açúcares refinados, com alta palatabilidade. (BAYOL *et al.*, 2010; COLOMBO, 2012). Além disso, segundo estudo de Sampey e colaboradores (2011), a dieta de cafeteria é um modelo mais robusto para o estudo da síndrome metabólica quando comparada a dieta hiperlipídica tradicional. No estudo conduzido por Franco e colaboradores (2012), com a utilização da dieta hiperlipídica, foi observado que após o desmame, os filhotes apresentaram um aumento de peso significativo em relação ao grupo com ratas alimentadas com dieta padrão, além de apresentarem aumento nos depósitos de gordura retroperitoneal, inguinal e epididimal.

É importante salientar que a programação metabólica ocorre tanto no período de gestação quanto de lactação, sendo determinantes para alterações morfológicas e metabólicas na prole (LISBOA *et al.*, 2012). Assim, no estudo conduzido por Murabayashi e colaboradores (2013), com camundongas C57BL/6N que foram tratadas com dieta hiperlipídica por quatro semanas antes do acasalamento e durante todo o período de gestação até o 17° dia, observaram que os fetos oriundos das mães tratadas com essa dieta, apesar de não apresentarem modificações no peso corporal, obtiveram um aumento no diâmetro do adipócito subcutâneo bem como na infiltração de macrófagos acompanhados do aumento nos níveis de TNF α nesse depósito. Deste modo, os autores concluíram, que somente o período de gestação foi capaz de promover alterações significativas no tecido adiposo do feto. Já quando analisada a fase de lactação isoladamente, no estudo de Troina e colaboradores (2010), suplementaram ratas somente durante a amamentação com óleo de linhaça, e observaram alterações na função sexual com retardo no início da puberdade, além da redução nas concentrações séricas de progesterona, dislipidemia e obesidade na vida adulta das ratas provenientes das mães suplementadas, mostrando assim a importância dessa fase também na programação metabólica.

Além da dieta, outro fator importante capaz de promover alterações no fenótipo de neonatos é o exercício físico, que em nosso protocolo experimental baseou-se nas recomendações de duas importantes sociedades ligadas a saúde, a OMS (WHO, 2010), que sugere que para um estilo de vida ativo, seja realizado pelo menos trinta minutos diários de exercícios leves, como a caminhada por exemplo, e o Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia (ACOG, 2002) que preconiza, após aprovação médica, que

as gestantes também devem realizar trinta minutos de exercícios de intensidade leve a moderada, diariamente.

Em estudo com intensidade e modalidade de treinamento (caminhada em esteira rolante) semelhante ao nosso (AMORIM,2009), em que foi analisado o consumo de oxigênio máximo (VO₂ máx) das ratas em fase de gestação de forma indireta por calorímetro de circuito aberto, foi observado que as velocidades utilizadas (0,4; 0,5; 0,6 km/h), apresentavam valores médios percentuais de 52 a 63% do VO₂ máx. Portanto, podemos classificar a atividade física aplicada as ratas como leve a moderada e dentro dos valores indicados como sugeridas pelo ACOG para gestantes.

O exercício físico durante a gestação leva a um aumento no volume da placenta por aumentar a irrigação e vilosidades da mesma, fazendo com que mais sangue rico em oxigênio e nutrientes cheguem ao feto (THOMAS et al., 2008); essa melhora na eficiência do fornecimento de nutrientes favorece um melhor desenvolvimento da prole (CLAPP, 2000). Esses resultados dão suporte aos dados referentes ao peso dos filhotes do nosso estudo, em que ambos os grupos de mães treinadas (FTC e FTCa) apresentaram um aumento de peso em relação aos sedentários (FSC e FSCa). Em dados percentuais, o aumento pode ser representado em 18% no grupo FTC e 27% no FTCa em relação ao sedentário controle (FSC).

Estudo relacionando o efeito do exercício físico sobre o *programação* metabólica com dieta hipoproteica, em que ratas Wistar foram treinadas durante 4 semanas antes do acasalamento e durante a gestação mantiveram um treinamento decrescente, mostraram que o treinamento materno atenuou os danos causados pela restrição de proteínas sobre o desenvolvimento, homeostase glicêmica e concentração de leptina a nível muscular na prole, apontando para um efeito terapêutico e/ou preventivo do exercício sobre esses aspectos (FIDALGO et al. , 2013). Também quando investigado os efeitos do exercício físico materno sobre a prole, sem alteração na dieta, foi constatada uma melhora na homeostase glicêmica, além do aumento na sensibilidade à insulina (CARTER et AL., 2013).

Ao analisarmos os efeitos do nosso protocolo experimental especificamente nos adipócitos, vimos que a dieta de cafeteria promoveu um aumento no diâmetro de ambos os depósitos adiposos (periepídimal e subcutâneo) e que o exercício

respondeu de maneira distinta nesses coxins. No coxim periepididimal, o exercício foi capaz de conter um aumento significativo no diâmetro dos adipócitos decorrente da dieta de cafeteria, o que não ocorreu na região subcutânea.

As respostas distintas ao exercício nos dois depósitos devem-se ao fato de apresentarem características fisiológicas diferentes, já que o coxim periepididimal, um depósito visceral, apresenta ação lipolítica mais acentuada pelo efeito intenso das catecolaminas, em virtude da maior quantidade de receptores $\beta 1$ e $\beta 2$ adrenérgicos na superfície celular, e o efeito antilipolítico da insulina atenuado, permitindo portanto acentuada mobilização de ácidos graxos em comparação ao depósito subcutâneo (FONSECA-ALANIZ et al., 2006). Já quando analisamos a celularidade dos adipócitos, verificamos que a dieta sem o exercício (FSCa) ocasionou redução contundente no número de adipócitos comparado aos demais grupos (FSC, FTC e FTCa), porém aumento do peso do coxim e diâmetro celular. Por outro lado, exercício físico associado a dieta reverteu parcialmente esta relação, isto é, inibiu o crescimento dos adipócitos e aumentou a celularidade. Estudos conduzidos em ratos adultos já demonstraram que o exercício aumenta de forma significativa a expressão de PPAR γ em pré-adipócitos (SERTIE et al., 2013), sugerindo maior capacidade adipogênica nesta condição. Esta relação merece ser investigada em nosso modelo em estudos futuros.

Os dados obtidos no tecido adiposo marrom apontam para um aumento de peso do coxim apenas no grupo dos filhotes procedentes das mães tratadas com dieta de cafeteria e exercitadas (FTCa). Já em nossa análise histológica, com a mensuração da área do adipócito e área ocupada pelas gotículas lipídicas, vimos um aumento em ambas as áreas (adipócito e gotícula) dos grupos advindos de mães que ingeriram dieta de cafeteria (FSCa e FTCa), indicando um comprometimento na morfologia desse tecido e uma conseqüente alteração na atividade do mesmo em função da dieta.

No estudo de Sampey et al. (2011), foi realizada a mesma análise histológica para verificar o tamanho das inclusões lipídicas no tecido adiposo marrom utilizando-se também da dieta de cafeteria em ratos Wistar, comparando-os com a dieta hiperlipídica, e foi constatado que a dieta de cafeteria promoveu um aumento nas inclusões lipídicas e no peso do coxim que mostrou-se ainda superior ao da dieta hiperlipídica.

De maneira geral, a programação imposta pela mãe, seja em decorrência da dieta ou do exercício, na massa adiposa pode ser observada na prole aos 21 dias. Embora nossos dados caracterizem apenas mudanças estruturais, devido a limitação de não ter sido possível investigar neste momento quais vias moleculares possam estar sendo programadas pelo exercício, acredita-se que alguns marcadores adipogênicos estejam alterados nesta fase.

7 CONCLUSÃO

A atividade física para as mães com dieta cafeteria promoveu menor ganho de massa adiposa, mesmo com elevado consumo calórico, com resposta similar em sua prole.

Na prole, o exercício realizado pelas mães foi benéfico na contenção do aumento do diâmetro dos adipócitos periepididimais, porém um intensificador da celularidade. No coxim inguinal também houve aumento da celularidade sem modificação no diâmetro.

No tecido adiposo marrom a dieta de cafeteria impôs um aumento da área dos adipócitos bem como a área das gotículas. O exercício não mostrou nenhum efeito atenuador sobre estes parâmetros.

6 REFERÊNCIAS

ACOG. American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Obstetric Practice. Committee opinion. Number 267, January 2002: exercise during pregnancy and the postpartum period. **Int J Gynaecol Obstet** v.77, p.79–81, 2002.

AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab.** v. 11, p. 327-332, 2000.

AKSU, B.; BAYKARA, S.O. Maternal treadmill exercise during pregnancy decreases anxiety and increases prefrontal cortex VEGF and BDNF levels of rat pups in early and late periods of life. **Neuroscience Letters**, v.516, p.221-225, 2012.

AKYOL, S.C.; EVANS, L.; MACMULLEN, S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. **Journal of Nutrition**, v.102, p.1601-1610, 2009.

AKYOL, A.; MCMULLEN, S.; LANGLEY-EVANS, S.C. Glucose intolerance associated with early-life exposure to maternal cafeteria feeding is dependent upon post-weaning diet. **British Journal of Nutrition.** v.107, p. 964–978, 2012.

AMORIM, M.F.; SANTOS, J.A.; HIRABARA, S.M.; NASCIMENTO, E.; SOUZA, S.L.; CASTRO, R.M.; CURI, R.; LEANDRO, C.G. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? **Exp Physiol.** V. 94, p. 906–913, 2009.

ARNER, P. Regional differences in protein production by human adipose tissue **Biochemical Society Transactions.** v. 29, p.72-5, 2001.

ARTAL,R.;O'TOOLE,M. Guidelines of the American College of Obstetricians and Gynecologists for exercise during pregnancy and the postpartum period. *British Journal of Sports Medicine*,v.37,p.6-12,2003.

BARBALHO, S.M.; SOUZA, M.S.S.; SILVA, J.C.P.; COQUEIRO, D.P.; OLIVEIRA, G.A.; COSTA, T.; OSHIWA, M. Efeito do Exercício Físico Contínuo e Intervalado no Peso e Perfil Bioquímico de Ratas Wistar Prenhes e Consequências no Peso da Prole. **Rev Bras Med Esporte**. v.17, n. 6 , 2011.

BARKER, D.J.P. In utero programming of chronic disease.**Clinical Science**. v. 95, p.115–128, 1998.

BAYOL, SA; SIMBI,BH; STICKLAND, NC. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **Journal Physiology**,v.3,p.951-961, 2005.

BAYOL, SA; FARRINGTON, SJ; STICKLAND, NC. A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. **Journal of Nutrition**, British, v.98,p.843-851, 2007.

BAYOL, SA; SIMBI, BH; BERTRAND, JA; STICKLAND, NC. Offspring from mothers fed a 'junk food' diet in pregnancy and lactation exhibit exacerbated adiposity that is more pronounced in females. **Journal Physiology**,v.13,p.3219-3230, 2008.

BAYOL, S.A.; SIMBI, B.H.; FOWKES, R.C.; STICKLAND, N.C. A Maternal "Junk Food" Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**. v. 15,p. 1451–1461, 2010.

BENKALFAT, N.B.; MERZOUK,H.; BOUANANE, S.; MERZOUK, S.; BELLENGER,J.; GRESTITI,J.;TESSIER,C.; NARCE,M. Altered adipose tissue metabolism in offspring of dietary obese rat dams. **Clinical Science**. V.121, p.19-28, 2011.

BOUCHARD, C. Childhood obesity: are genetic differences involved?. **J. Clin. Nutr**, Am 89, 1494S–1501S, 2009.

BOUCHARD, L.; THIBAUT, S.; GUAY, S.; SANTURE, M.; MONPETIT, A.; ST-PIERRE, J.; PERRON, P.; BRISSON, D. Leptin gene epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. **Diabetes Care**. v. 33, n. 11, p. 2436-2441, 2010.

CASSOLA, P. Importância do Tecido Adiposo Marrom na ativação da Termogênese induzida pela injeção central do C75, um inibidor do ácido graxo sintase. 2012. 121f. **Tese** (Doutorado em Ciências da Fisiologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

CARTER, L.G.; LEWIS, K.N.; WILKERSON, D.C.; TOBIA, C.M.;TENLEP, S.Y.N.; SHRIDAS, P.; GARCIA-CAZARIN, M.L.; WOLFF,G.; ANDRADE, F.H.; CHARNIGO, R.J.; ESSER, K.A.;EGAN, J.M.;DE CABO, R.;PEARSON, K.J. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 303, p. E1061–E1068, 2012.

CARTER, L.G; QI, N.R; DE CABO, R; PEARSON, K.J. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. **Med Sci Sports Exerc**. v. 45, p.832–40, 2013.

CHECHI, K.; HERZBERG, G.R.; CHEEMA, S.K. Maternal dietary fat intake during gestation and lactation alters tissue fatty acid composition in the adult offspring of C57Bl/6 mice. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. v. 83,p. 97–104, 2010.

CLAPP, J.F; CAPELESS, E.L. Neonatal morphometrics after endurance exercise during pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**. v.163, p. 1805–11, 1990.

CLAPP, J.F.; KIM, H.; BURCIU, B.; LOPEZ, B. Beginning regular exercise in early pregnancy: effect on fetoplacental growth. **Am J Obstet Gynecol.** v.183, p.1484–1488, 2000. CLAPP, J.F. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and fetoplacental growth. **European journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v.110, p.80-85, 2013.

COLOMBO, G.; BAZZO, M.L.; NOGUEIRA, C.L.; COLOMBO, M.D.H.P.; SCHIAVON, L.L.; D'ACAMPORA, A.J. A study on the short-term effect of cafeteria diet and pioglitazone on insulin resistance and serum levels of adiponectin and ghrelin. **Braz J Med Biol Res.**, v. 45, n.10, p. 935-941, 2012.

DABELEA, D.; HANSON, R.L.; LINDSAY, R.S.; PETTITT, D.J.; IMPERATORE, G.; GABIR, M.M.; ROUMAIN, J.; BENNET, P.H.; KNOWLER, W.C. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity a study of discordant sibships. **Diabetes**, v. 49, 2000.

DESAI, M.; ROSS, M.G. Fetal Programming of Adipose Tissue: Effects of Intrauterine Growth Restriction and Maternal Obesity/High-Fat Diet. **Seminars in Reproductive Medicine**. v 29, n. 3, 2011.

DRAGANSKI, M.B. A Training-induced structural changes in the adult human brain. **Behav Brain Res.** v. 192, p.137–142, 2008.

ENTRINGER, S.; BUSS, C.; SWANSON, J.M.; COOPER, D.; WING, D.A.; WAFFARN, F.; WADHWA, P.D. Fetal programming of body composition, obesity, and metabolic function: the role of intrauterine stress and stress biology. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v.2012, 2012.

FARMER, S.R. Transcriptional control of adipocyte formation. **Cell Metabolism**. v.4, n.4, p. 263-73, 2006.

FIDALGO, M.; FALCAO-TEBAS, F.; NOGUEIRA-NETO, J.F.; MOURA, E.G.; LISBOA, P.C.; CASTRO, R.M.; LEANDRO, C.G. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate–low physical training. **British Journal of Nutrition**. v. 109, p. 449–456, 2013.

FLEGAL, K.M.; KALANTAR-ZADEH, K. Overweight, mortality and survival. **Obesity**. v. 21, n. 9, p.1744-5,2013.

FONSECA-ALANIZ, M.H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M.I.C.; LIMA, F.B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 50 n. 2, 2006.

FRANCO, J. G.; FERNANDES, T.P.; ROCHA, C.P.D.; CALVINO, C.; PAZOS-MOURA, C.C.; LISBOA, P.C.; MOURA, E.G.; TREVENZOLI, I.H. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. **J Physiol**. v.21, p. 5503–5518, 2012.

GESTA, S.; TSENG, Y.; KAHN, C. R. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. **Cell**. v.131, p. 242-56, 2007.

GREGOIRE, F. M.; SMAS, C.M.; SUL, H.S. Understanding Adipocyte Differentiation. **Physiol. Rev**. v.78. p. 783–809, 1998.

GUO, YF et al. Assessment of genetic linkage and parent-of-origin effects on obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab**. 91, 4001–4005, 2006.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. The **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v.89, n.6, p.2548–2556, 2004.

KIM, J.B.; WRIGHT, H.M.; WRIGHT, M.; SPIEGELMAN, B.M. ADD1/SREBP1 activates PPAR γ through the production of endogenous ligand (fatty acid metabolism nuclear hormone receptor adipocyte differentiation). **Cell Biology**. V. 95, p. 4333–37, 1998.

KYUNG, E.R.; PHELAN, S.; MCCAFFERY, J. Early Determinants of Obesity: Genetic, Epigenetic, and In Utero Influences. **International Journal of Pediatrics**. 2012.

LISBOA, P.C.; OLIVEIRA, E.; MOURA, E.G.; Obesity and endocrine dysfunction programmed by maternal smoking in pregnancy and lactation. **Front Physiol**. v.3, p. 437, 2012.

MATHIAS, P.C.; ELMHIRI, G.; OLIVEIRA, J.C.; DELAYRE-ORTHEZ, C.; BARELLA, L.F.; TOFOLO, L.P.; FABRICIO, G.S.; CHANGO, A.; ABDENNEBI-NAJAR, L. Maternal diet, bioactive molecules, and exercising as reprogramming tools of metabolic programming. **Eur J Nutr**. v. 53, p.711–722, 2014.

MCCONNELL, J.M.; JANSEN, E.H.J.M.; PIERSMA, A.H.; OZANNE, S.E.; TWINN, D.F.; REMACLE, C.; ROWLERSON, A.; POSTON, L.; TAYLOR, P.D. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance a novel murine model of developmental programming. **Hypertension**. v.51, p.383-392, 2008.

MURABAYASHI, N.; T. SUGIYAMA, T.; ZHANG, L.; Kamimoto, Y.; UMEKAWA, T.; MAC, N.; SAGAWA, N. Maternal high-fat diets cause insulin resistance through inflammatory changes in fetal adipose tissue. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. v.9 p. 39-44, 2013.

MUSRI, M.M.; GOMIS, R.; PÁRRIZAS, M. A chromatin perspective of adipogenesis. **Organogenesis**. v. 6, n.1, p.15-23; 2010.

NAHÁS, M.V. **Obesidade, controle de peso e atividade física**. Londrina : Midiograf, 1999.

NATHANIELSZ, P.W.; FORD, S.P.; LONG, N.M.; VEGA, C.C.; REYES-CASTRO, L.A.; ZAMBRANO, E. Interventions to prevent adverse fetal programming due to maternal obesity during pregnancy. **Nutrition Reviews**. v. 71,p. 78–87, 2013.

NEDERGAARD,J.; BENGSTSSON,T. CANNON,B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v. 293, n. 2, p. E444-52, 2007.

OBEN, J.A.; MOURALIDARANE, A.; SAMUELSSON, A.M.; MATTHEWS, P.J.;MORGAN, M.L.; MCKEE, C.; SOEDA, J.; FERNANDEZ-TWINN, D.S.;MARTIN-GRONERT, M.S.; OZANNE, S.E.; SIGALA, B.; NOVELLI, M.; POSTON, L.; TAYLOR, P.D. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice.**Journal of Hepatology**. v. 52 p. 913–920, 2010a.

OBEN, J.A.;PATEL, T.;MOURALIDARANE, A.; SAMUELSSON, A.M.; MATTHEWS, P.;POMBO,J.; MORGAN, M.; MCKEE, C.; SOEDA, J.;NOVELLI, M.;POSTON, L.; TAYLOR, P. Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.394,p.24–28, 2010b.

PALOU, A.; SERRA,F.; BONET, M.L.; PICÓ, C. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem.**European Journal of Nutrition**. v. 39, n.4, p127-44, 2000.

PARNPIANSIL, P.; JUTAPAKDEEGUL, N.; CHENTANEZ, T.; KOTCHABHAKDI,N. Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup,” **Neuroscience Letters**, v. 352, n. 1, p. 45–48, 2003.

POND,C. Ecology Of Storage and Allocation of Resources: Animals. **Enciclopedia of Life Sciences**. p1-5,2001.

QUEIROZ, J.C.F.; ALONSO-VALE, M.I.C.; CURI, R.; BESSA LIMA, F. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 53, n. 5, 2009.

RODBELL, M. Metabolism of isolated fat cells effects of hormones on glucose metabolism and lipids. *Journal of Biological Chemistry*,v.239,p.357-80,1964.

ROSEN, E. D. AND B. M. SPIEGELMAN. "Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis." **Nature**. v. 444, n. 7121, p. 847-853, 2006.

SAMUELSSON, A.M.; MATTHEWS, P.A.; ARGENTON, M.; CHRISTIE, M.R.; SEALE, P.; BJORK, B.; KAJIMURA,S.; CHIN,S.; KUANG, S.; SCIME, A.; DEVARAKONDA,S.; CONROE, H.M.; ERDJUMENT-BROMAGE, H.; TEMPST, P.; RUDNICKI, M.A.; BEIER, D.R.; SPIEGELMAN, B.M. PRDM16 controls a Brown fat/skeletal muscle switch. **Nature**. v. 454, n. 7207, p.961-7, 2008.

SAMPEY, B.P.; VANHOOSE, A.M.; WINFIELD, H.M.; FREEMERMAN, A.J. MUEHLBAUER, M.J.;FUEGER, P.T.; NEWGARD, C.B.; MAKOWSKI, L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**. v. 19, p. 1109–1117, 2011.

SERTIE, R.A.; ANDREOTTI, S.; PROENÇA, A.R.G.; CAMPANA, A.B.; LIMA-SALGADO, T.M.; BATISTA, M.L.; SEELAENDER, M.C.L.; CURI,R.; OLIVEIRA, A.C.; LIMA, F.B. Cessation of physical exercise changes metabolism and modifies the adipocyte cellularity of the periepididymal white adipose tissue in rats. **J Appl Physiol**. v. 115, p.394-402, 2013.

TCHOUKALOVA, Y.D.; SARR, M.G.; JENSEN, M.D. Measuring committed preadipocytes in human adipose tissue from severely obese patients by using adipocyte fatty acid binding protein. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative.** v.287, p. R1132-1140, 2004.

THOMAS, D.M.; CLAPP, J.F.; SHERNCE, S. A fetal energy balance equation based on maternal exercise and diet. **J R Soc Interface.** v.5,p. 449–455, 2008.

TORRES, J.A.A; BACCARELLI, A.; BOLLATI; V. **Epigenetics and lifestyle.** Epigenomics. 3(3): 267-277. Junho, 2011.

TROINA, A.A.; FIGUEIREDO, M.S.; MOURA, E.G.; BOAVENTURA, G.T.; SOARES, L.L.; CARDOZO, L.F.M.F.; OLIVEIRA, E.; LISBOA, P.C.; PASSOS,M.A.R.F.; PASSOS, M.C.F. Maternal flaxseed diet during lactation alters milk composition and programs the offspring body composition, lipid profile and sexual function. **Food and Chemical Toxicology.** v. 48,p. 697–703, 2010.

TURDI, S.; GE, W.; HU, N.; BRADLEY, K.M.; WANG, X.; REN, J. Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology.**v. 55, p. 117–129, 2013.

VAN HARMELEN, V.; RÖHRIG, K.; HAUNER, H. Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects. **Metabolism - Clinical and Experimental.** V. 53, n.5, p. 632-37, 2004.

VEGA, C.C.; REYES-CASTRO, L.A.; BAUTISTA, C.J.; LARREA, F.; NATHANIELSZAND, P.W.; ZAMBRANO, E. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. **International Journal of Obesity.** 2013.

WABITSCH, M. The acquisition of obesity: insights from cellular and genetic research. **Proc Nutr Soc.** v.59,n.2, p.325– 330, 2000.

WAJCHENBERG, B.L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. **Endocrine Reviews.**v. 21,n. 6, p. 697–738, 2000.

WAJCHENBERG, B.L. et.al. Specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. **Horm Metab Res.** v.34, p.616-21, 2002.




WHO, **Global recommendations on physical activity for health.** 2010.

WOLFFE AP, GUSCHIN D. Review: chromatin structural features and targets that regulate transcription. **J Struct Biol,** 129:102–122, 2000.

ANEXOS



ANEXO A: Parecer do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação.

 Universidade Estadual de Maringá Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação			
Parecer emitido após reunião realizada em: 9 /11/2010		Parecer nº 113/2010	
Pesquisador: Solange Marta Franzói de Moraes		Setor: DFS	
Título:		Protocolo nº 022/2010	
Treinamento físico e dieta alimentar: efeitos sobre a resistência a insulina e adiposidade em diferentes fases do desenvolvimento			
Entrada: 27/5/2010	Início: 15/5/2010	Término: 14/5/2013	
Situação do Projeto: Aprovado			
Relatório Final: Aguarda finalização do projeto			
<p>ATENÇÃO: este parecer, quando a situação do projeto constar "aprovado", autoriza os proponentes a executarem o protocolo em questão. O certificado será emitido após apreciação e a p r o v a ç ã o d o r e l a t ó r i o f i n a l .</p>			
Considerações e Parecer: Considerando que todos os questionamentos foram devidamente respondidos, conforme constam nas fis. 71 a 73 do presente protocolo, somos de parecer que se aprove o mesmo. Contudo, solicita-se ainda à Coordenadora que Informe no relatório final qual a metodologia de eutanásia que será utilizada tanto nos ratos filhotes fêmeas, quanto nos ratos filhotes machos excedentes que não serão aproveitados na experimentação e o destino final de tais animais. Orienta-se ainda à secretaria do Comitê que se junte o protocolizado 10969/2010-PRO ao Processo 022/2010-CEAE.			
 Dr. Yánio Anjos Presidente do CEAE/UEM			
Artigo 10 da Resolução nº 032/2005-CEP: Os projetos analisados serão enquadrados em uma das seguintes categorias: I - aprovado; II - pendente, quando o CEAE considerar o protocolo e o projeto como aceitáveis, porém com problemas no protocolo, no projeto ou em ambos, e houver recomendação de uma revisão específica, ou solicitação de modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em até 60 dias, após o recebimento da comunicação, pelo coordenador do projeto; III - arquivado, quando o protocolo permanecer pendente, transcorridos 30 dias, após o prazo previsto no Inciso II do recebimento da comunicação; IV - não aprovado			
www.ppg.uem.br - e-mail: ceea@uem.br			