

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

TATIANE APARECIDA DA SILVA RIBEIRO

**EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO EM
RATAS: REPERCUSSÃO NO
DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE DE
SUAS PROLES**

Maringá
2012

TATIANE APARECIDA DA SILVA RIBEIRO

**EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO EM RATAS:
REPERCUSSÃO NO DESENVOLVIMENTO DA
OBESIDADE DE SUAS PROLES**

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

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rinaldi

Maringá
2012

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

R484e Ribeiro, Tatiane Aparecida da Silva
Exercício físico moderado em ratas: repercussão
no desenvolvimento da obesidade de suas proles /
Tatiane Aparecida da Silva Ribeiro. -- Maringá,
2012.
x, 47 f. : il., figs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Wilson Rinaldi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Universidade Estadual de Londrina, Centro
de Ciências da Saúde, Departamento de Educação
Física, Programa Associado de Pós-Graduação em
Educação Física, 2012.

1. Exercício físico moderado - Programação
metabólica. 2. Exercício físico moderado - Ninhada
reduzida. 3. Exercício físico moderado - Obesidade.
I. Rinaldi, Wilson, orient. II. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde.
Departamento de Educação Física. Programa Associado
de Pós-Graduação em Educação Física. III.
Universidade Estadual de Londrina. IV. Título.

CDD 21.ed. 616.398

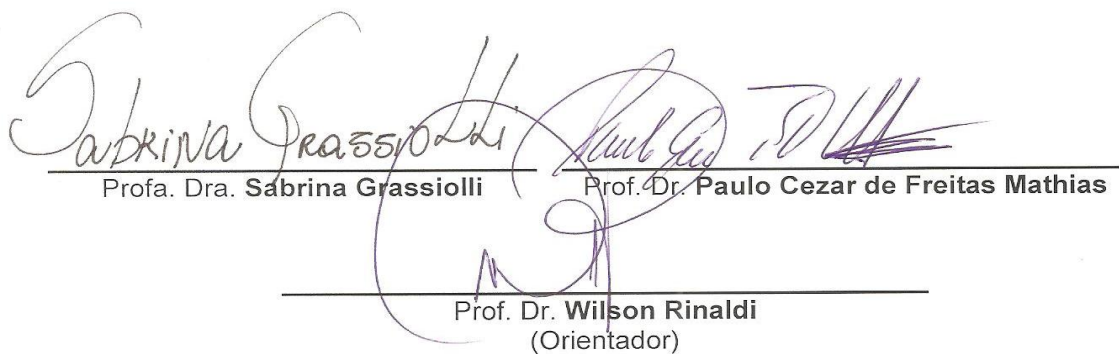
ZSS-00599

TATIANE APARECIDA DA SILVA RIBEIRO

EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO EM RATAS: REPERCUSSÃO NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE DE SUAS PROLES

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

APR OVADA em 08 de Junho de 2012



Profa. Dra. Sabrina Grassioli

Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias

Prof. Dr. Wilson Rinaldi
(Orientador)

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus, a todos meus amigos do laboratório de Biologia Celular da Secreção que fizeram parte deste árduo caminho, e me ajudaram a superar os momentos de dificuldades. Em especial dedico a meus queridos pais, Joselito e Suely, a minha irmã Suzieli e a meu namorado Richelmy pelo apoio incondicional, na busca da concretização deste sonho e por compreenderem as minhas ausências.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Maringá.

Ao Departamento de Educação Física e ao Programa de Pós Graduação UEM/UEL

Ao meu orientador, o professor Dr. Wilson Rinaldi, sou grata pela inserção ao meio científico e pela oportunidade confiada. Agradeço a orientação e apoio.

Ao professor Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias, pelos ricos ensinamentos ao longo da minha jornada em seu laboratório e todos os momentos de risos, choros e conquistas, obrigada professor, aprendi muito!

A professora Dr^a. Rosana Torrezan que surgiu em tempo oportuno em minha vida, trazendo consigo além de talento, generosidade um coração cheio de esperança de dias melhores, muito obrigada Rosana!

A Dr^a. Clarice Gravena por compartilhar seu conhecimento e pelos momentos de descontração, a bioterista Maroli obrigada por compartilharem parte de seu tempo e experiências de vida.

Ao Laboratório de Biologia Celular e Secreção do departamento de Biologia Celular e Genética, pela colaboração em meus experimentos. Também agradeço a todos os mestrandos (as), doutorandos (as) e alunos (as) de iniciação científica dos Departamentos de Biologia Celular, e Educação Física que cooperaram para a realização deste estudo.

Aos meus queridos amigos e companheiros de todos os momentos, Ananda, Laize, Rosiane, Júlio Cezar, Claudinéia, Aryane, Gabriel, João Vitor, Luiz Felipe, Kelly, Hellen Douglas e Rodrigo por toda ajuda e por tornarem minha rotina mais agradável e alegre “Colhendo os sonhos que Deus plantou no solo fértil do seu coração, vejo dor, mas também vejo esperanças que o senhor depositou em suas mãos. “Amigo! Eu sempre estarei ao seu lado, mesmo longe acredite: sou eu! Corações que o Senhor Deus escolheu para serem eternamente irmãos.” (Anjos de resgate).

A minha família: Meus pais Suely e Joselito, meus queridos avós, Agenor, Floripes, Lenir e Durval (em memória).

A minha querida irmã Suzieli, que esteve ao meu lado e me ajudou a superar os maus momentos e deu boas gargalhadas nos momentos de alegrias, “maninha” obrigada pelo apoio, amor e compreensão, te amo muito.

Ao meu namorado Richelmy pelo apoio e por me fazer sorrir em meio às preocupações e dias sombrios na busca incessante por este “sonho”.

À banca examinadora, especialmente a professora Dr^a. Sabrina Grassioli, que também aceitou revisar esta Dissertação.

Aos órgãos de apoio financeiro à pesquisa: CAPES e CNPq.

Acima de tudo agradeço a Deus por todas as dádivas alcançadas e direcionamento até aqui.

RIBEIRO, Tatiane Aparecida da Silva. **Exercício físico moderado em ratas: repercussão no desenvolvimento da obesidade de suas proles.** 2012. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciência da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, 2012.

RESUMO

Introdução: A obesidade é um dos maiores problemas de saúde do mundo. A inatividade física associada a uma ingestão alimentar excessiva e rica em calorias é o maior preditor para várias doenças crônicas observadas em fases mais tardias da vida. **Objetivo:** Avaliar o impacto de um programa de exercício físico moderado em ratas (ao longo da vida e na gestação) em bloquear/atenuar a instalação de obesidade induzida por superalimentação na prole. **Metodologia:** ratas Wistar foram submetidas a um treinamento físico moderado [esteira rolante; 3x/semana durante 13 semanas] 21-90 dias de vida, incluindo a gravidez. No mesmo período o grupo controle permaneceu sedentário. Para garantir a superalimentação prole, os filhotes com três dias de vida, foram aleatoriamente reduzidos para três filhotes / lactante preferencialmente do sexo masculino (ninhada reduzida-NR) ou 9 filhotes / lactante (Ninhada normal-NN). Os filhotes, de ambos os grupos, mãe exercitadas e sedentárias, foram aleatoriamente subdivididas em 4 subgrupos: [ninhada normal-mãe sedentária (NN-MS), ninhada reduzida-mãe sedentária (NR-MS), ninhada normal-mãe exercitada (NR-ME) e ninhada reduzida-mãe exercitada (NR-ME)]. Todos os grupos permaneceram sedentários do nascimento até os 90 dias de vida. Ao longo de todo período experimental foram avaliados ganho de peso corporal (PC) e ingestão alimentar. Depois de adultos os ratos foram anestesiados e sacrificados para retirada dos principais estoques de gordura: Ovariana (OVA), periepididimal (PER), retroperitoneal (RET), mesentérica (MES) e inguinal (ING). **Resultados:** As ratas exercitadas demonstraram uma média de PC de 9,86%, 7,55% e 11,20% maior de 21 a 90 dias de idade, durante a gravidez e a lactação respectivamente, quando comparadas as sedentárias ($p < 0,05$). A ingestão alimentar das mães exercitadas aumentou em média 21,36%, 23,87%, durante a gravidez e lactação, respectivamente, em comparação as mães sedentárias. Mães exercitadas apresentaram menores estoques de gordura corporal do que as não treinadas ($p < 0,05$). A prole de NR de mães sedentárias ou exercitadas apresentaram maior PC, ingestão alimentar e reservas de gordura corporal do que animais de NN ($p < 0,05$). **Conclusão:** o treinamento físico moderado aplicado as fêmeas inclusive durante a gestação não auterou o surgimento da obesidade em suas proles submetidas à superalimentação no início da vida.

Palavras-Chave: Obesidade. Exercício físico moderado. Programação metabólica. Ninhada reduzida.

RIBEIRO, Tatiane Aparecida da Silva. **Moderate-physical exercise in female rats: impact of obesity development their offspring.** 2012. Dissertation (Master of Physical Education) - Health Science Center, State University of Maringá, 2012.

ABSTRACT

Background/Aims: Obesity is an important worldwide health problem. Physical inactivity associated with over intake of rich-calorie food is the major predictor to several chronic diseases observed late in life. We aimed to evaluate the impact of moderate exercise training program in female on blocking/attenuating overfeeding-obesity onset in their offspring male rats. *Methods:* Female Wistar rats were exposed to moderated exercise training [treadmill; 3x/week during 13 weeks] from 21 to 90 days-old, including pregnancy. On the same time, controls were remaining sedentary. To guarantee offspring overfeeding, pups with three days-old were randomly standard to 3 pups/dams preferentially male (small litters-NR) or 9 pups/dams (normal litters-NN). Offsprings were divided 4 different groups: from both mother groups were divided in exercised and sedentary [normal litter-mother sedentary (NN-MS), small litter mother sedentary (NR-MS), normal litter mother exercised (NR-ME) and small litter-mother exercised (NR-ME)]. Body weight (BW) gain and food intake were evaluated weekly from 21 to 90 days-old. After anesthesia adult rats were killed. Ovarian (OVA), periepididymal (PER), retroperitoneal (RET) and mesenteric (MES); inguinal (ING) fat pads were isolated and weight. *Results:* Exercised female rats showed an average 9,86%, 7,55% and 11,20% greater BW, from 21 to 90 days-old, during pregnancy and nursing, respectively than to sedentary ones ($p < 0,05$). Food intake was increased 21,36%, 23,87%, during pregnancy and nursing, respectively in exercised mothers compared to sedentary. Exercised mothers presented lower body fat stores than untrained ones ($p < 0,05$). SL offspring from sedentary or exercised mothers showed greater BW, food intake and body fat stores than NL ones ($p < 0,05$). *Conclusions:* Maternal moderate exercise training including pregnancy did not change obesity onset in their offspring submitted to early overfeeding.

Key- words: Obesity. moderate physical exercise. metabolic programming. small litter.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Esquema de organização dos animais NR e NN.....	25
Figura 2 -	Divisão dos grupos 1º e 2º fase.....	26
Figura 3 -	Protocolo de exercício.....	27
Figura 4 -	Efeito do exercício físico moderado sobre o peso corporal de ratas.....	29
Figura 5 -	Efeito do exercício físico moderado sobre a ingestão alimentar de ratas.....	30
Figura 6 -	Efeito do exercício físico moderado sobre a gordura corporal de ratas.....	31
Figura 7 -	Prole (F ₂).....	32
Figura 8 -	Peso corporal da prole de 0 a 90 dias de idade.....	34
Figura 9 -	Ingestão alimentar da prole de 0 a 90 dias de idade.....	35
Figura 10 -	Principais estoques de gordura corporal da prole aos 90 dias de idade.....	36
Figura 11 -	Glicemia de jejum aos 90 dias (F ₂).....	37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGL	Ácidos Graxos Livres
AgRP	Peptídeo regulado pelo gene agouti
HAT	histonas acetiltransferase
ARQ	Núcleo Arqueado
ATP	Adenosina Trifosfato
AUC	Área Sobre a Curva
CART	Transcrito Relacionado à Cocaína e a Anfetamina
CH3	Radical Metil
CpG	Guanina Dinucleotídeo
DEF	Departamento de Educação Física
DM2	Diabete Melito Tipo 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNMTs	DNA Metiltransferases
EXE	Exercitadas
F₁	Fase 1
F₂	Fase 2
HDAC	Histonas Desacetilase
HDM	Histonas Demetilase
HMT	Histona Metiltransferase
IA	Consumo Alimentar
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ING	Inguinal
LHA	Núcleo Hipotalâmico Lateral
MC	Massa Corporal
MES	Mesentérica
MSG	L-Glutamato Monossódico
ncRNA	RNAs Não Codificadores
NN	Ninhada Normal
NN-ME	Ninhada Normal - mães exercitadas
NN-MS	Ninhada Normal - mães sedentárias

NO	Óxido Nítrico
NPY	Neuropeptídeo Y
NR	Ninhada Reduzida
NR-ME	Ninhada Reduzida - mães exercitadas
NR-MS	Ninhada Reduzida - mães sedentárias
OMS	Organização Mundial da Saúde
OVA	Ovariana
PERI	Periepididimal
PC	Peso Corporal
POMC	Neuropeptídeo própiomelanocortina
PVN	Núcleo Hipotalâmico Paraventricular
RET	Gordura Retroperitoneal
RET	Retroperitonial
RI	Resistência à Insulina
RNA	Ácido Ribonucleico
rRNA	RNA Ribossomal
SED	Sedentárias
SM	Síndrome Metabólica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
tRNA	RNA Transportador
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UEM	Universidade Estadual de Maringá
VMH	Núcleo Hipotalâmico Ventromedial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivos Gerais.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Obesidade causas e consequências.....	15
3.2 Controle central do apetite.....	16
3.3 Obesidade e epigenética.....	17
3.4 Modelos experimentais de obesidade.....	19
3.5 Exercício físico.....	21
4 MÉTODOS.....	23
5 RESULTADOS.....	28
6 DISCUSSÃO.....	36
7 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A obesidade pode ser considerada um problema de abrangência mundial, esta pode ser definida como uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, sendo consequência de balanço energético positivo, que geralmente pode estar associado a maior ingestão alimentar e sedentarismo . (1-4).

O sedentarismo associado á ao aumento da ingestão calórica é um importante preditor para o desenvolvimento e instalação da obesidade (5-6). Dados epidemiológicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que a obesidade já atinge, aproximadamente, 1,5 bilhões de pessoas em todo o mundo (7).

A obesidade comumente pode estar associada às doenças metabólicas, como hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e resistência a insulina (RI) entre outras (8). O excesso de gordura corporal também aumenta a suscetibilidade de disfunções crônico-degenerativas , tais como distúrbios endócrinos, hipotalâmicos, problemas de ordem psicológica, cardiopatias, aterosclerose e neoplasias dentre outros (9-10).

O uso de modelos experimentais de obesidade tem contribuído para o entendimento dessa fisiopatologia. Esses modelos concentram-se, sobretudo em roedores, que podem ser de linhagens de animais geneticamente selecionada (ratos Zucker e camundongos ob/ob), animais com obesidade induzida por dietas ricas em gordura e/ou dietas de cafeteria, por lesões no sistema nervoso central (SNC) através do uso de L-glutamato monossódico (MSG), por excesso de alimentação, ninhada reduzida (NR) ou ainda por meio de alterações epigenéticas ocorridas durante a gestação (11).

Muitos estudos são desenvolvidos com o objetivo de verificar o efeito do exercício físico no combate da obesidade. Uma vez que este, principalmente em condições aeróbicas, promove aumento da oxidação de ácidos graxos livres (AGL), levando a redução dos estoques de gordura e consequente redução do peso corporal (12).

O exercício físico aeróbico de moderada intensidade também induz o aumento da atividade simpática, gerando maior oxidação de AGL (13), devido ao aumento da concentração plasmática de hormônios lipolíticos que auxiliam na redução dos estoques de gordura e consequente perda de peso corporal (14). Portanto este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto de um programa de exercício físico moderado em ratas F_1 ao longo da vida, incluindo gestação, em bloquear/atenuar a instalação de obesidade induzida por superalimentação (NR) na prole (F_2).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o impacto de um programa de exercício físico moderado em ratas (F_1) (ao longo da vida, incluindo o período de gestação) em bloquear/atenuar a instalação de obesidade induzida por superalimentação em ratos (F_2).

2.2 Objetivos específicos

Experimento 1

- 1 Avaliar o ganho de peso corporal das mães (F_1), do nascimento aos 90 dias de vida, durante a gestação e a lactação e ingestão alimentar dos 21 aos 90 dias de vida, durante a gestação e a lactação.
- 2 Analisar o acúmulo de gordura tecidual das mães ao final da lactação.

Experimento 2

- 3 Avaliar o ganho de peso corporal dos filhos (F_2), do nascimento aos 90 dias de vida e ingestão alimentar dos 21 aos 90 dias de vida.
- 4 Analisar o acúmulo de gordura tecidual dos filhos aos 90 dias de vida.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Obesidade causas e consequências

Nas últimas 4 décadas a obesidade tem se destacado no cenário epidemiológico mundial como importante problema de saúde pública (15). Esta pode ser caracterizada como o acúmulo excessivo de gordura corporal, possivelmente causada pelo aumento da ingestão alimentar associado ao sedentarismo (16). A obesidade pode levar a instalação de doenças como: hipertensão arterial, cardiopatias, dislipidemias, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2, distúrbios respiratórios, problemas articulares, aumento da incidência de câncer, além de distúrbios psicossociais (17).

Aproximadamente 2,6 milhões de pessoas morrem todos os anos vítimas da obesidade e comorbidades (18). A obesidade atinge todas as faixas etárias da população. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) do ano de 2011, apontam que 1,5 bilhões de adultos com mais de 20 anos e crianças menores de 5 anos se encontram acima do peso, destes, mais de 200 milhões de homens e aproximadamente 300 milhões de mulheres apresentam obesidade (18-19).

O Brasil tem apresentado aumento nos índices de obesidade, de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), descritos por Sichieri *et al.* demonstram que o número de homens adultos obesos passou de 2,8% para 8,8% e entre as mulheres passando de 7,8% para 11,2%, entre os anos de 1974 e 2003 (20).

A obesidade tem etiologia multifatorial, pautada em fatores genéticos, comportamentais e ambientais (21-23). Assim filhos de pais obesos tendem a ser obesos (24-26). Estudos baseados na epigenética descrevem que alterações herdadas em função de alteração na expressão de genes de forma independente, através de aumento ou redução de metilações e/ou acetilações do DNA, podem ocorrer em resposta a injúrias ocasionadas durante a vida peri-natal (27-32).

O ganho de peso corporal está diretamente ligado ao aumento da ingestão alimentar e ao sedentarismo (1-2). O equilíbrio energético é realizado principalmente pelo SNC (33). Desta forma, qualquer desequilíbrio alimentar

ocorrido no período gestacional e/ou lactacional é capaz de afetar regiões cerebrais, responsáveis pela manutenção do peso corporal, principalmente alterações na região hipotalâmica, que estão associadas com mudanças no comportamento alimentar e metabólico (34).

A regulação hipotalâmica da homeostase energética é realizada por meio da integração entre sinais periféricos e hormonais refletindo o estado metabólico ao SNC, que por sua vez envia as respostas necessárias novamente a periferia (33).

3.2 Controle central do apetite

O SNC tem papel fundamental na manutenção do peso corporal (35). O controle central do balanço energético, localizado principalmente, na região hipotalâmica, atua conforme a disponibilidade de nutrientes. De acordo com o estado energético do indivíduo, pode ocorrer o estímulo ou inibição de hormônios como, a insulina e a leptina, neurotransmissores e neuropeptídeos, como serotonina e neuropeptídeo Y, além de outros fatores humorais que auxiliam no controle da ingestão alimentar e do peso corporal (36).

Qualquer alteração nos circuitos neurais hipotalâmicos compromete a homeostase metabólica, como por exemplo a redução da sinalização central de leptina e de insulina que são capazes de promover o aumento da ingestão alimentar, levando a obesidade e DM2 (37).

O hipotálamo é formado por núcleos, que são acúmulos de neurônios, que são subdividido em hipotálamo lateral e medial (35).

O hipotálamo medial é composto pelo núcleo pré-óptico; núcleo anterior; núcleo supra-quiasmático; núcleo paraventricular; núcleo dorsomedial; núcleo ventromedial; núcleo arqueado e núcleo posterior (35). O hipotálamo lateral é composto pelo núcleo pré-óptico, núcleo supraquiasmático, núcleo supra-óptico, núcleo lateral, núcleo túbero-mamilar e núcleos tuberosos laterais (35).

O hipotálamo ainda é dividido em duas zonas distintas, de acordo com sua complexa rede de circuitos orexígenicos e anorexígenicos, responsáveis pela ingestão alimentar e o gasto energético (38). Sendo que a área lateral do hipotálamo (LHA) pertence à zona do SNA parassimpático e a área medial do

hipotálamo, principalmente o núcleo ventromedial (VMH), pertence à zona do SNA simpático (39)

O VMH seria considerado o centro da saciedade e a LHA o centro da fome (40). Estímulo elétrico na LHA aumenta a atividade parassimpática e diminui a atividade simpática, promovendo importante aumento da ingestão alimentar, realizada através de estímulos orexigênicos realizados por neurotransmissores como neuropeptídeo Y (NPY) e proteína relacionada ao gene Agouti-(AgRP) (40).

Por outro lado, a estimulação do VMH aumenta a atividade simpática e reduz a atividade parassimpática, provocando intensa hipofagia, realizada através de estímulos anorexigênicos, por meio da liberação de neurotransmissores como transcritor regulado pela cocaína e anfetamina (CART) e proopiomelanocortina (POMC) (39).

Animais com lesão na LHA apresentam redução da ingestão alimentar, do ganho de peso, do tecido adiposo e protéico (41). Portanto o SNC é o principal regulador responsável pela ingestão alimentar e balanço energético (42).

3.3 Obesidade e epigenética

Mudanças ambientais ocorridas no período perinatal como a obesidade, desnutrição, hiperalimentação, cardiopatias, DM2, hipertensão arterial e distúrbios psicológicos maternos, além de uso excessivo de fármacos, e exposição intensa a agentes estressores podem fazer com que os filhos sejam mais susceptíveis a hiperfagia, baixa estatura, hipogonadismo e desenvolvimento da obesidade (43). As modificações metabólicas observadas no indivíduo adulto, que sofre injúrias na vida perinatal são transmitidas por alterações epigenéticas, que são responsáveis pela mudança de características fenotípicas da descendência (44).

Epigenética é caracterizada por modificações herdáveis no genoma que não alteram a sequência de nucleotídeos do DNA (45-46). Os 3 mecanismos epigenéticos mais comuns são: metilação do DNA, modificações nas histonas e ação de RNAs não codificadores (ncRNAs). (47-48).

A metilação do DNA, é caracterizada pela adição de um radical metil (CH₃) no carbono 5 da Citosina geralmente seguida por Guanina dinucleotídeo (CpG), catalisada por enzimas DNA metiltransferases (DNMTs) (49). No processo de

replicação do DNA, as marcas de metilação são copiadas da fita molde para a recém sintetizada, desta forma mantendo nas células-filhas os mesmos padrões de metilação da célula-mãe. (50).

Existem varias modificações nas histonas, tais como, metilação, acetilação, ubiquitinação, ribolisação, citrulinação e fosforilação entre outros, no entanto as mais conhecidas são a acetilação e metilação (51-52). As histonas acetiltransferases (HATs) e as histonas metiltransferases (HMTs) adicionam grupos acetil e metil, respectivamente, enquanto as histonas desacetilases (HDACs) e histonas demetilases (HDMs) removem os grupos acetil e metil, respectivamente (51-52). Essas modificações atuam principalmente modificando a conformação da cromatina e liberando ou impedindo o acesso ao DNA para que ocorra a transcrição (53)

Os RNAs não codificantes (ncRNAs) são caracterizados como moléculas de RNA (RNAs ribossomais (rRNAs), os RNAs transportadores (tRNAs), os pequenos e grandes RNAs regulatórios) que não foram traduzidas em proteínas (54).

Deste modo, perturbações ambientais durante a vida perinatal, podem programar o indivíduo às condições adversas de saúde na vida adulta, como por exemplo, obesidade e DM2 (55).

Em países não desenvolvidos, o baixo peso fetal pode ser uma consequência da subnutrição materna, podendo ocorrer à seleção para alelos que podem levar o filho a resistência à insulina (RI) (56). Mediante a escassez nutricional a RI diminui a captação de glicose limitando o crescimento fetal (57). Apenas no final da gravidez há um aumento na taxa de lipólise materna, providenciando substratos energéticos ao metabolismo da mãe, poupando a glicose para o feto (58).

Portanto os fatores genéticos associado à influência ambiental contribuem de forma efetiva para o aumento da prevalência da obesidade em crianças e adolescentes. Uma vez que os hábitos familiares para uma alimentação saudável e atenção a prática regular de atividade física sofrem influências, na maioria das vezes determinadas pelo ambiente familiar (59).

Assim sendo, a vida perinatal pode ser caracterizada como um período de intenso desenvolvimento e maturação do SNC, tornando esta fase um período crítico, de susceptibilidade a programação metabólica (60). Os principais eventos de desenvolvimento cerebral em ratos têm início no período pré-natal, se estendendo até as 3 primeiras semanas de vida após o nascimento, já nos seres

humanos, estes eventos se estendem a partir do segundo trimestre de gestação, se estendendo até os primeiros 18-24 meses após o nascimento (61).

Resultados publicados por nosso grupo demonstraram que ratos que receberam dieta rica em gordura no período da adolescência, apresentaram alterações metabólicas na vida adulta bem como, aumento dos estoques de gordura corporal, maior atividade parassimpática, intolerância a glicose, resistência a insulina e hiperinsulinemia (62).

Portanto, podemos concluir que existem períodos cruciais de desenvolvimento, que tornam o sujeito vulnerável a distúrbios que possam levá-lo a uma programação metabólica (63-65). Deste modo hábitos saudáveis combinados com uma dieta saudável e exercício durante a gravidez e ao longo da vida, podem ter influência positiva sobre a instalação e desenvolvimento da síndrome metabólica (59).

3.4 Modelos experimentais de obesidade

Estudos experimentais utilizando animais têm contribuído de forma efetiva para o estudo da obesidade, permitindo a investigação das funções metabólicas, fisiológicas e neuroendócrinas; que levam ao desenvolvimento da “síndrome metabólica”, e aos danos hipotalâmicos irreversíveis na idade adulta da prole (66).

Alguns tipos de modelos experimentais de obesidade são originados de alterações genéticas que podem ser classificadas como monogênicas e poligênicas (67). Como exemplo de modelos genéticos monogênicos temos o camundongo amarelo, obesos devido a mutação no cromossomo 2 murino que sintetiza AgRP, causando uma potente resposta orexígena (68).

Outros modelos experimentais de obesidade monogênica são resultantes da ação hipotalâmica ao hormônio leptina (69-70). Os camundongos ob/ob e o ratos obesos Zucker (fa/fa) (71). Os camundongos ob/ob são obesos devido a mutação no cromossomo 6, responsável pela codificação do gene que realiza a síntese da leptina (gene ob) fazendo com que estes animais sejam hiperfágicos, diabéticos e obesos e o rato Zucker mutação (fa/fa) não sintetiza os receptores de leptina, tornando os animais obesos por volta da 3ª a 5ª semana de vida (com aproximadamente 40% do corpo constituído por lipídeos em 14 semanas), os

animais homozigotos para a mutação (fa/fa) não conseguem copular e por isso, não geram descendentes (71).

Os modelos poligênicos podem ser exemplificados pelos ratos OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty*), com susceptibilidade nos cromossomos 1, 7, 14 e X, levando a obesidade e hiperfagia, decorrente de um alelo nulo para síntese do receptor de colecistocinina A, substância com função anorexígena (72). Nesta mesma categoria estão englobados os camundongos KK (diabetes moderado, obesidade, hiperinsulinemia e hiperplasia de células beta pancreática), rato israelense, uma vez alimentado com ração comercial para roedores que desenvolve obesidade, diabetes, dislipidemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia, rato Goto-Kakizaki, que desenvolve hiperglicemia e hiperinsulinemia, principalmente na idade adulta e o rato espontaneamente hipertenso (73).

Podemos obter outros modelos também a partir da oferta de dieta com alto teor calórico (dieta hiperlipídica ou dieta de cafeteria), são dietas específicas, que devido à alta palatabilidade, leva o animal a hiperfagia (67).

Estes modelos são caracterizados pela indução exógena de obesidade, por meio de alimentação, onde os animais podem ser alimentados com dietas que apresentam altos valores calóricos, excedendo aos da dieta padrão para roedores, podendo ser estas, rica em gorduras ou em carboidratos, ou ainda podendo ser altamente palatável, induzindo hiperfagia, dieta de cafeteria (74). Este modelo de obesidade induzida por dieta tende a apresentar aumento de ingestão alimentar, do peso corporal e da adiposidade, também pode levar a disfunções endoteliais, alterações hepáticas e no trato gastrointestinal, intolerância a glicose, hiperlipidemia e alterações nos circuitos reguladores do apetite (75-76).

Também podemos obter modelos de obesidade em roedores, induzido por lesão nos neurônios localizados principalmente no ARQ, como por exemplo, o tratamento neonatal com MSG, que leva o animal ao desenvolvimento da obesidade (77). A administração MSG nos primeiros dias de vida em filhotes de roedores promove a morte de neurônios em áreas hipotalâmicas, mais especificamente no ARQ, provocando distúrbios que leva a redução de crescimento corporal e acúmulo excessivo de adiposidade (78-80).

Na vida adulta estes animais apresentam aumento da adiposidade corporal, hiperglicemia, hiperinsulinemia, resistência a insulina (RI), atividade do

SNS reduzida, atividade parassimpática aumentada e redução na secreção de catecolaminas (81-83). Ao contrário de outros modelos de obesidade animais MSG, não dependem de um aumento na ingestão alimentar (84).

Outro modelo experimental de obesidade, amplamente utilizado, devido a sua praticidade e baixo custo é obtido por meio da NR, que consiste basicamente em reduzir o número de filhotes para três durante o período de lactação (85). Roedores como ratos e camundongos geram aproximadamente 10-12 filhotes, portanto em uma ninhada com apenas três filhotes a quantidade de alimento disponibilizado pela mãe é superior, promovendo hiperfagia, hiperinsulinemia, resistência periférica à insulina e obesidade na vida adulta (85-86).

É importante destacar que o período em que ocorre a superoferta de leite, pode ser classificado como uma “janela metabólica”, onde podem ocorrer alterações epigenéticas (87). A redução da prole, neste período, pode resultar em um *imprint* metabólico, devido a alterações na estrutura e na função de áreas hipotalâmicas, como por exemplo, baixa resposta a estímulos anorexígenicos no VMH (88-89).

Corroborando os estudos de Plagemann e colaboradores (1999), o nosso grupo de pesquisa tem demonstrado alterações significativas em roedores submetidos à hiperalimentação devido à redução da ninhada (63). Constatamos que a hiperalimentação na lactação induziu hiperfagia, hiperglicemia e hiperinsulinemia, aumento da adiposidade, do peso corporal, (90). Identificamos ainda em resultados não publicados que o excesso de nutrientes na lactação levou os animais à redução da atividade do SNS.

Dessa forma tornam-se necessários, estudos que investiguem os efeitos da programação metabólica durante a vida perinatal, visando seus reflexos na vida adulta.

3.5 Exercício físico

O aumento de sobrepeso e obesidade observados nos últimos anos tem como principal causa o consumo excessivo de alimentos e a inatividade física (91). O exercício físico pode ser caracterizado pela realização sistemática de repetições de movimentos orientados, com finalidade de aumentar o gasto energético e provocar adaptações fisiológicas, promovidas pelo SNA (92-93).

A obesidade pode ser caracterizada principalmente pela redução da atividade do SNS (94). O exercício físico é capaz de estimular o aumento da atividade do SNS, promovendo maior mobilização de energia, levando a redução dos depósitos de gordura e peso corporal (95-96).

O exercício físico possui efeitos fisiológicos agudos imediatos nos períodos pré- e pós-imediato a sua execução, promovendo o aumento da frequência cardíaca, ventilação pulmonar e sudorese, aumentando o gasto calórico (97).

Os efeitos crônicos do exercício resultam da exposição regular a sessões de exercícios, representando aspectos funcionais, como bradicardia de repouso, hipertrofia muscular, hipertrofia cardíaca do ventrículo esquerdo e aumento do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máximo) (97).

De modo geral, programas de exercício físico possuem baixo custo e são benéficos à saúde, indicados para normalizar lipídico, melhorar distúrbios metabólicos, como hiperglicemia, resistência à insulina, maior mobilização de AGL, entre outros (74, 98-102).

Um programa de exercício físico considerado aeróbico quando as sessões de exercícios realizadas apresentam intensidade abaixo do limiar anaeróbio (103-104). Com elevação das taxas de lactato sanguíneo e perda da linearidade do CO_2 produzido em relação ao O_2 consumido e hiperventilação abrupta pulmonar, indica o início do metabolismo anaeróbio durante a atividade física (105).

O exercício físico aeróbico é caracterizado por atividades contínuas e dinâmicas, como natação, caminhada e corrida (106). Do ponto de vista fisiológico o exercício aeróbio diferencia-se do anaeróbio pela utilização de ácidos graxos como substrato energético (104, 107). Desta forma em programas de exercícios aeróbicos de longa duração, há o predomínio da fosforização oxidativa, utilizando oxigênio, para síntese da adenosina trifosfato (ATP), preserva-se o glicogênio e utilizam-se os ácidos graxos como substratos energéticos (108).

Portanto programas de exercícios físicos e controle da alimentação são variáveis fundamentais na prevenção da obesidade, uma vez que os benefícios do exercício físico aeróbico têm importante contribuição na redução dos estoques de gordura e redução do peso corporal (1-2, 109).

4 MÉTODOS

4.1. Animais e modelo experimental

1ª fase (F_1)

Foram utilizados ratos Wistar, obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá e criados no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção, vinculado ao Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá, mantidos a temperatura média de 23°C e ciclo de luminosidade de 12 horas (claro e escuro). Após 5 dias de adaptação os animais foram submetidos a um período de acasalamento, na proporção de três fêmeas para cada macho. Ao constatar a prenhez, as fêmeas foram separadas dos machos e acondicionadas em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial Nuvital®, (Curitiba/PR, Brasil) e água *ad libitum* durante todo o período experimental.

Ao nascimento dos filhotes, as ninhadas foram padronizadas para 9 filhotes fêmeas por lactante, do nascimento até os 21 dias de vida (final da lactação), (Figura 1). Aos 21 dias de idade os filhotes (fêmeas) foram separados das lactantes e alocados em gaiolas coletivas, na proporção de 5 ou 4 animais por gaiola, considerando que eram 9 filhotes no máximo.

Após o desmame os animais foram divididos em 2 grupos distintos, ninhada normal sedentária (SED) e ninhada normal exercitada (EXE). O protocolo de exercício adaptado de Negrão (1992), descrito na figura 3 foi aplicado à prole (F_1), dos 21 aos 90 dias de idade (75). Após o cumprimento das sessões de exercício, as fêmeas eram submetidas ao acasalamento, na proporção de três para cada macho. Durante todo período de acasalamento e gestação, as fêmeas realizaram o mesmo protocolo de treinamento readaptado [a carga de trabalho foi alterada para 75% da carga máxima da última sessão de exercício (15metros/min)] mantido até o final da gestação (figura 3).

Ao constatar a prenhez, as fêmeas foram separadas dos machos e acondicionadas em gaiolas individuais. A constatação da prenhez se deu pelo

controle do ciclo estral das matrizes, todos os dias às 7 horas da manhã, coletava-se a secreção vaginal das fêmeas para obtenção de um esfregaço imerso em salina 0,9% e observado em microscópio óptico, resolução de 4x, para constatação do período fértil para o acasalamento. O primeiro dia de prenhez foi considerado quando observado a presença de espermatozóides na secreção vaginal das fêmeas, a partir dessa constatação estas eram acomodadas em gaiolas individuais.

Durante todo período experimental foram acompanhados, semanalmente, ingestão alimentar (IA) e ganho de peso corporal (PC). Ao final do aleitamento, foram retiradas e pesadas às principais reservas de gorduras ovarianas (OVA), retroperitoneal (RET), mesentérica (MÊS) e inguinal (ING).

2ª fase (F_2):

No terceiro dia de vida, as proles oriundas dos grupos experimentais SED e EXE, foram aleatoriamente padronizadas em 9 animais preferencialmente machos para ninhada normal (NN) ou 3 para redução de ninhada (RN) por lactante, como previamente descrito (figura 1) (63).

Aos 21 dias de idade os filhotes (machos) foram separados das lactantes e divididos em 4 subgrupos, ninhada normal filhos de mãe sedentária (NN-MS), ninhada reduzida filhos de mãe sedentária (NR-MS), ninhada normal filhos de mãe exercitada (NN-ME), ninhada reduzida filhos de mãe exercitada (NR-ME) e alocados em gaiolas coletivas, sendo 3 animais por gaiola para os grupos NR e 4-5 animais por gaiola para os grupos NN (figura 2B).

Todos os grupos receberam ração comercial Nuvital®, água *ad libitum* e permaneceram sedentários, dos 21 aos 90 dias de idade. Foram acompanhados ganho de PC e IA, do nascimento aos 90 dias de vida. Nesta data verificaram-se os principais depósitos de gorduras, PERI, RET, MÊS e ING.

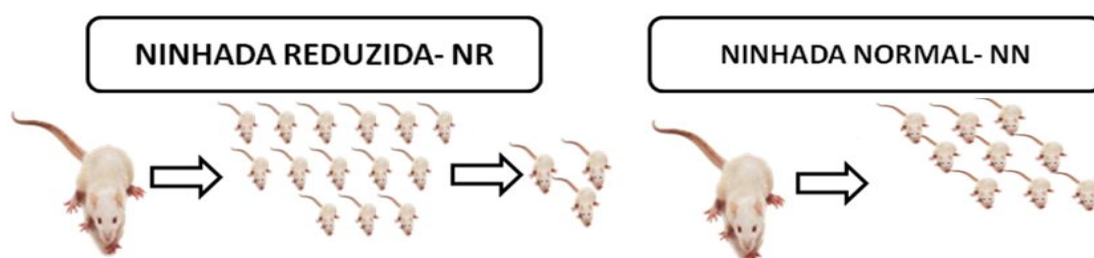


Figura 1: Esquema de organização dos Animais NR e NN

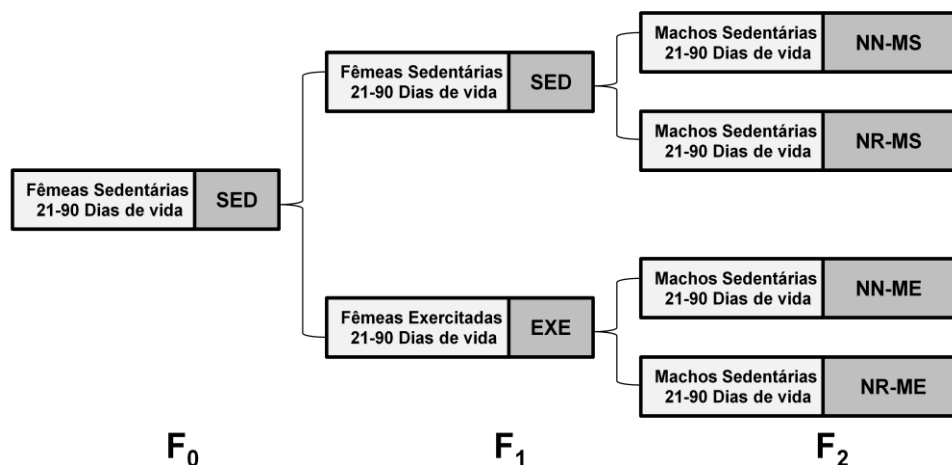


Figura 2: Divisão dos Grupos 1ª e 2ª fase

4.2.1 Cronograma de exercício:

Foi utilizado um protocolo de exercício ao qual garantia uma atividade aeróbica durante todo o período experimental, para tanto utilizamos um programa de exercício proposto por Negrão e colaboradores (1992) (64). Foi utilizada uma esteira rolante para ratos (modelo ET-2000 Insight®; Ribeirão Preto, SP, Brasil).

O exercício foi realizado no período noturno (às 17 horas), respeitando o ciclo biológico dos ratos, que são mais ativos durante a noite (110). Os ratos que não realizaram exercício por três sessões consecutivas foram descartados.

4.2.1 Período de adaptação:

Foram realizadas sessões semanais com velocidade inicial em 50% do VO_{2max} (10m/min) com duração inicial de 10 minutos evoluindo para sessões com duração de 20 minutos (12m/min) (figura 3).

4.2.1 Período de treinamento:

Após o período de adaptação, deu-se início as sessões de treinamento, compostas por 3 sessões semanais, com velocidade inicial de 55% do VO_{2max} , com tempo total da sessão de treino de 20 minutos (12 m/min), evoluindo até 75% do VO_{2max} , 60 minutos (20m/min). A partir da 4ª sessão, foi realizado no

início um aquecimento de 5min (10m/min) e ao final da sessão, recuperação de 5min (10m/min). A variação de tempo e velocidade no período de treinamento foi realizada de acordo com o número de sessões do protocolo de treino de 30 sessões (21 a 90 dias) (figura 3).

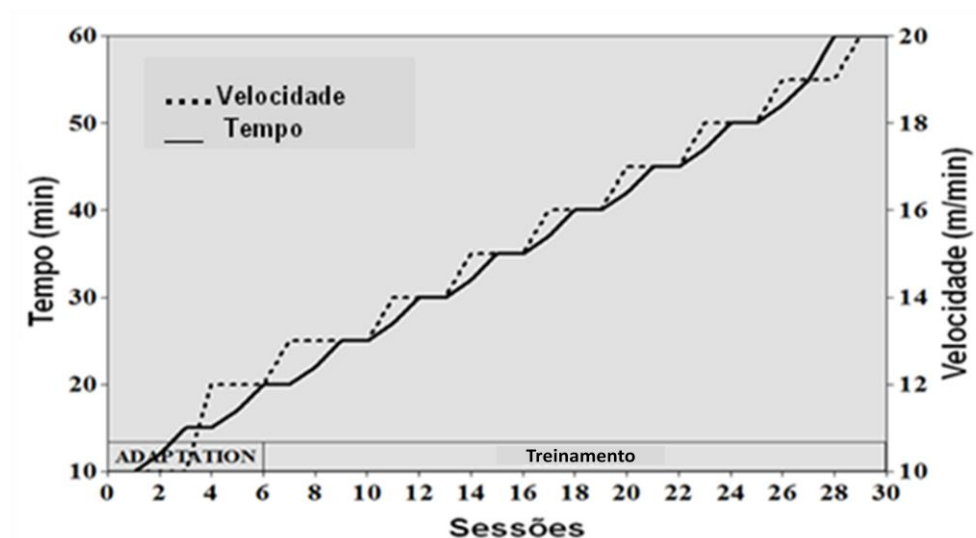


Figura 3 – Protocolo de exercício.

4.3 Avaliação da obesidade

4.3.1 Experimento 1:

Ao término dos procedimentos experimentais (~ 140 dias de vida, F₁) os animais foram pesados e anestesiados com a mistura (Quetamina-Xilazina, na dose 3 mg + 0,6 mg/100 g de massa corpórea (MC), respectivamente). Como parâmetros bastante utilizados para estimar o grau de obesidade foram retirados e pesados, em balança de precisão modelo MK-200B (Pepit Balance®), os principais estoques de gorduras; OVA, RET, MES e ING.

4.3.2 Experimento 2:

4.3.2.1 Avaliação da obesidade

Ao término dos procedimentos experimentais (aos 90 dias de vida, prole F₂) os animais foram pesados e anestesiados com a mistura (Quetamina-

Xilazina, na dose 3 mg + 0,6 mg/100 g de massa corpórea (MC), respectivamente). Como parâmetro bastante utilizado para estimar o grau de obesidade, os principais estoques de gorduras; PERI, RET, MES e ING. Foram retirados e pesados, em balança de precisão modelo MK-200B (Pepit Balance®).

4.3.2.2 Glicemia de jejum

Após os 90 dias de idade, os animais foram pesados e anestesiados com a mistura (Quetamina-Xilazina, na dose 3 mg + 0,6 mg/100 g de massa corpórea (MC), respectivamente). Em seguida foram submetidos à cirurgia para o implante de uma cânula de silicone na veia jugular externa direita. Após a cirurgia, os animais encontravam-se acomodados no biotério setorial permanecendo em gaiolas individuais.

Passadas 24 h depois da realização do procedimento cirúrgico, com jejum noturno de 12 h (20h00min às 8h00min) os animais, sem efeito de anestésico, eram submetidos à retirada de uma amostra de sangue (300-350 µL), diretamente da veia jugular por meio da cânula. Para dosagem de glicose utilizou-se o método da glicose oxidase (111) por meio de espectrofotometria (Analisador bioquímico semiautomático, BIO 200FL, Bio Plus®, São Paulo/SP, Brasil), utilizando kit comercial (Gold Analisa®, Belo Horizonte/MG, Brasil).

Todos os experimentos foram realizados de acordo com os princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais (Processo número 028/2009) aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Maringá Seguindo as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.6. Análise estatística

Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM. Os dados foram analisados através do teste t de *Student* ou *One-way* ANOVA seguido de pós-teste de *Tukey*. Usando como nível de significância valores de $p < 0,05$. Os teste foram realizados com o uso do Software GraphPad Prims versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

5 RESULTADOS

5.1 Efeito do exercício físico moderado sobre o peso corporal (PC) de ratas.

Podemos observar através das curvas de crescimento representado na figura 4ABC, que as ratas do grupo EXE apresentaram maior PC, durante todo procedimento experimental. Quando representamos a área sobre a curva (AUC) do PC, observamos que as ratas do grupo EXE apresentaram um aumento de 9,86% (g) do peso corporal do desmame até os 90 dias de idades, 7,55% (g) durante a gestações e de 11,20% (g) ($p < 0,05$), durante a lactação, quando comparadas ao grupo SED, Figura 4DEF.

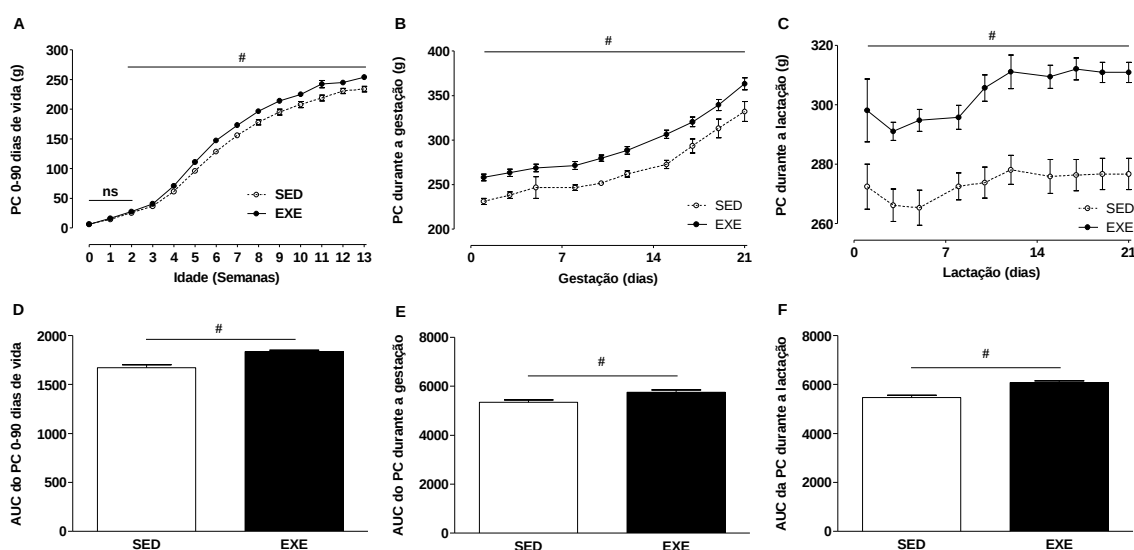


Figura 4 – Efeito do exercício físico moderado sobre o peso corporal (PC) de ratas. (A) do nascimento aos 90 dias de idade. (B) durante a gestação. (C) durante a lactação. (D) AUC do PC do nascimento aos 90 dias de idade. (E) AUC do PC durante a gestação e (F) AUC do PC durante a lactação. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). ^{ns} não há diferença estatística; # $p < 0,05$ SED versus EXE. Teste t de Student.

5.2 Efeito do exercício físico moderado sobre a ingestão alimentar de ratas.

Comparando a ingestão alimentar de ratas do grupo exercitado e sedentário no período de 0 á 90 dias de idade, não observamos diferença significativa entre ambos os grupos, Figura 5AD. No entanto, durante a gestação e a lactação as ratas do grupo exercitado apresentam um aumento significativo da ingestão alimentar, representado pela Figura 5BC. Que pode ser mais bem representado na Figura 5EF, onde os animais do grupo EXE apontam maiores valores da AUC da IA de 21,36% (g) e 23,87% (g) ($p < 0,05$) respectivamente durante o período de gestação e lactação.

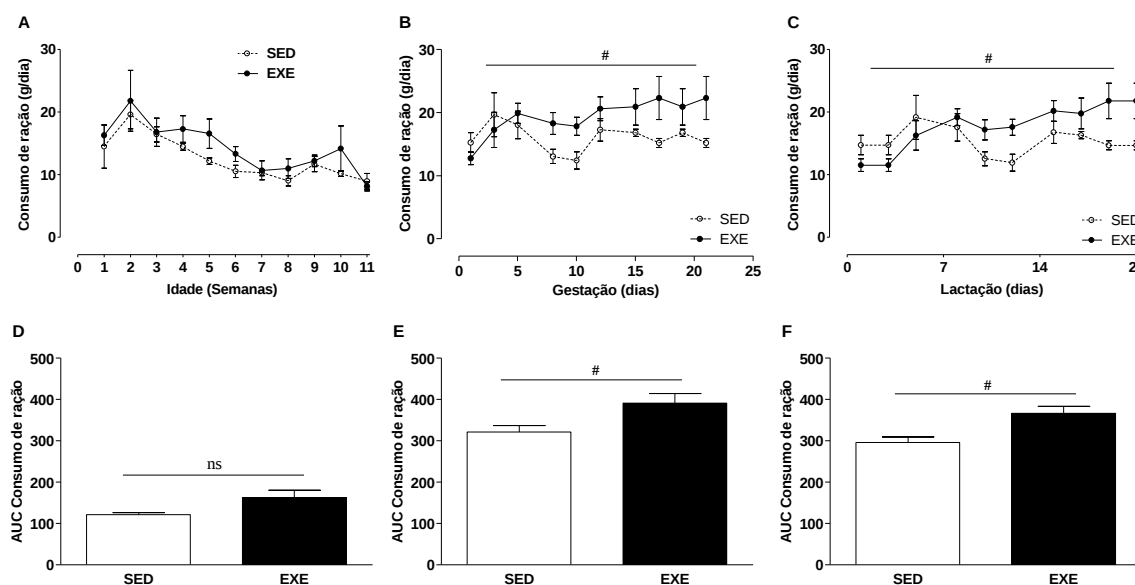


Figura 5 – Efeito do exercício físico moderado sobre a ingestão alimentar de ratas. (A) dos 21 aos 90 dias de vida, (B) durante a gestação, (C) durante a lactação (D) AUC da IA dos 21 aos 90 dias de vida, (E) AUC da IA durante a gestação e (F) AUC da IA durante a lactação. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). ^{ns} não há diferença estatística; # $p < 0,05$ SED versus EXE. Teste t de Student.

5.3 Efeito do exercício físico moderado sobre a gordura corporal de ratas.

As ratas exercitadas demonstraram redução dos principais estoques de gordura retroperitoneal, mesentérica, inguinal e ovariana de 23%, 33,59%, 45,52% e 32,18% ($p < 0,05$) respectivamente, em comparação as ratas sedentárias na idade de 90 dias, Figura 6ABCD.

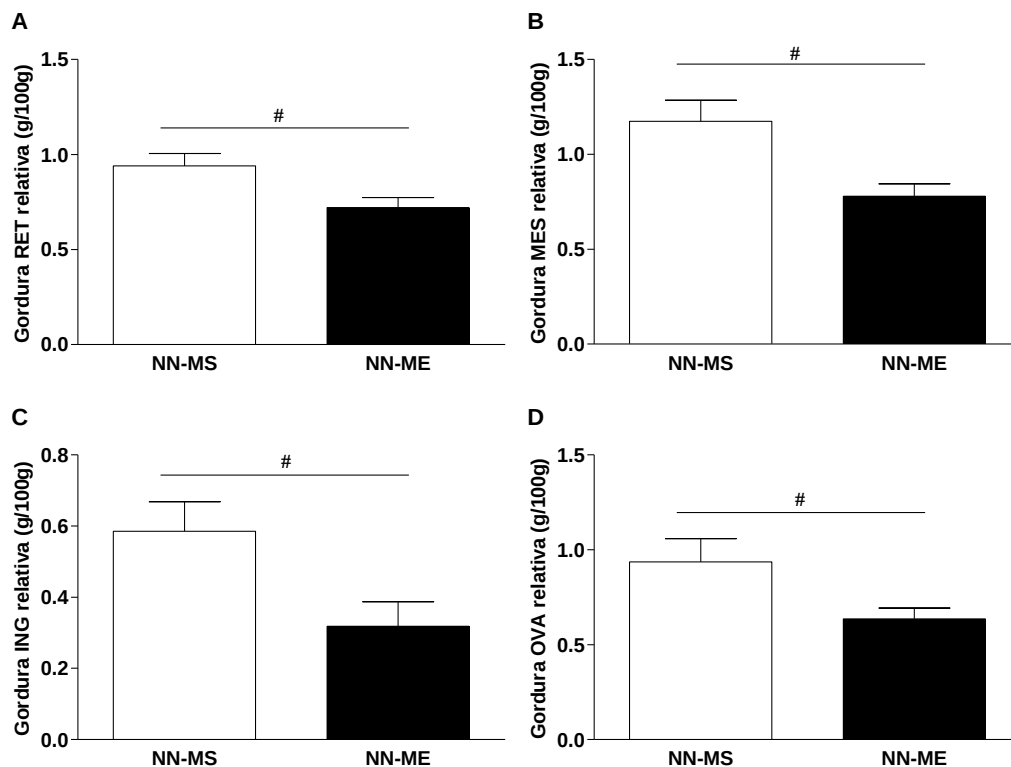


Figura 6 – Efeito do exercício físico moderado sobre a gordura corporal de ratas. (A) Gordura retroperitoneal, (B) gordura mesentérica, (C) gordura inguinal, (D) gordura ovariana. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). ^{ns} não há diferença estatística; # $p < 0,05$ SED versus EXE. Teste t de Student.

5. 4 Prole (F_2).

O exercício físico moderado realizado pelas mães, não apresentou resultados significativos, no que se refere ao peso corporal de F_2 ao nascimento, Figura 7A. Também podemos observar que o exercício, não influenciou no número de filhotes nascidos, Figura 7B.

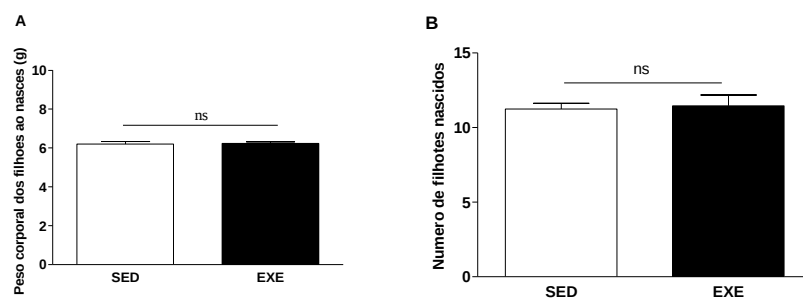


Figura 7 – Prole (F_2). (A) 0 dia – Nascimento. (B) Número de filhotes nascidos. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). ^{ns} não há diferença estatística; # $p < 0,05$ SED versus EXE. Teste t de Student.

5.5 Peso corporal da prole de 0 a 90 dias de idade.

Através da curva de ganho de PC observamos que os ratos F₂ do grupo NR-MS, já apresentavam aumento de 20,94% (g) do PC na segunda semana de vida e aos 21 dias de idade já apresentaram aumento de peso de 11,68% em relação ao grupo NN-MS, Figura 8A. O grupo NR-ME, apresentou aos 90 dias de vida um aumento de 57,60% em relação ao grupo NN-ME, Figura 8 A.

Destaca-se ainda que neste período, do nascimento até aos 21 dias de idade o grupo NN-MS apresentou AUC do PC de 23,29% ($p < 0,05$) maior que o grupo NR-MS e o grupo NR-ME um aumento de 38,69% ($p < 0,05$) sobre o grupo NN-ME, Figura 8B.

No período compreendido entre 21 a 90 dias de vida, a curva de evolução do PC demonstra que os animais oriundos de NR, tanto filhos de mães SED, quanto EXE apresentaram aumento do PC, Figura 8C. Esta diferença pode ser melhor observada na Figura 8D, que representa a AUC do PC, onde o grupo NR-MS apresenta um aumento de 10,06% ($p < 0,05$) sobre o grupo NN-MS e o grupo NR-ME apresentou aumento de 30,9% ($p < 0,05$) comparado ao grupo NN-EXE. No entanto quando comparamos os grupos F₂ filhos de mães sedentárias e exercitadas não há diferença significativa entre os grupos.

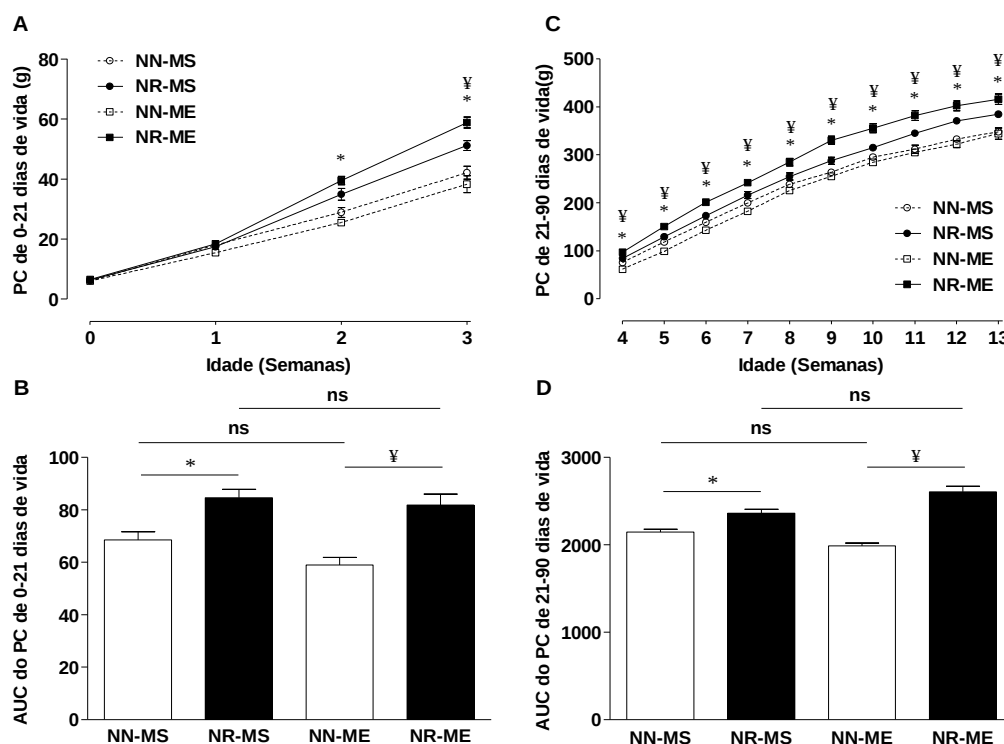


Figura 8 – Peso corporal da prole de 0-90 dias de idade (F_2). (A) de 0- 21 dias de idade (g), (B) dos 21 aos 90 dias de idade, (C) AUC do PC de 0- 21 dias de idade, (D) AUC do PC de 21 aos 90 dias de idade. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). * $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; # $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME; § $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; ¥ $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME, One-way ANOVA, pós teste de Tukey.

5.6 Ingestão alimentar da prole de 0 a 90 dias de idade.

A curva de 13 semanas (21-90 dias de vida) representando a ingestão alimentar dos animais F_2 aponta diferença significativa a partir da sexta semana de vida, de modo que o grupo NR-MS apresentou um aumento de 28,94% ($p < 0,05$) em relação ao grupo NN-MS e o grupo NR-ME um aumento de 38,23% ($p < 0,05$) sobre o grupo NN-ME, Figura 9A. Também podemos notar diferença significativa na AUC da ingestão alimentar entre os grupos NR-MS, com aumento de 17,86% ($p < 0,05$) sobre o grupo NN-MS e aumento de 23,10% ($p < 0,005$) do grupo NR-ME comparado ao grupo NN-ME. No entanto quando comparamos os grupos F_2 filhos de mães sedentárias e exercitadas não há diferença significativa entre os grupos Figuras 9: B.

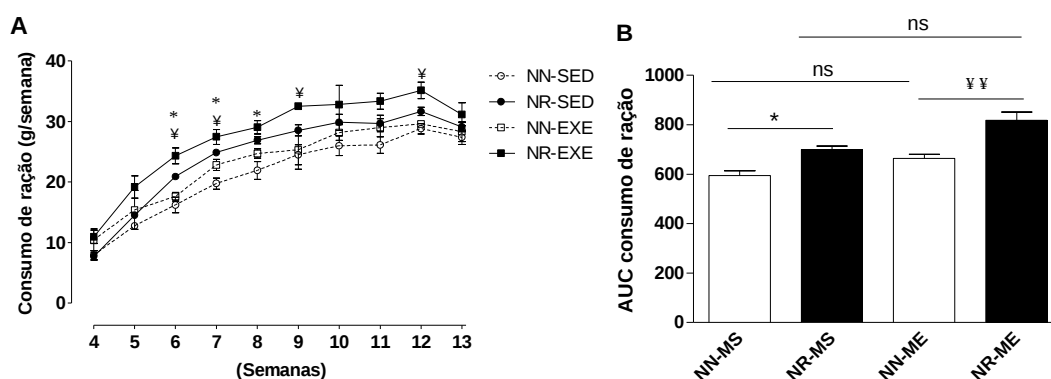


Figura 9 – Ingestão alimentar da prole dos 21 aos 90 dias. (A) Curva de ingestão alimentar dos 21 aos 90 dias de vida. (B) Área sobre a curva de ingestão alimentar dos 21 aos 90 dias de vida. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). * $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; # $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME; § $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; ¥ $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME, One-way ANOVA, pós teste de Tukey.

5.7 – Principais estoques de gordura corporal da prole aos 90 dias de idade.

Um importante preditor da obesidade pode ser designado pelo aumento dos estoques de gordura. Os animais do grupo NR-MS apresentaram aumento de 48,49% ($p < 0,005$), 55,50%, 54,60% e 58,24% ($p < 0,001$) nos estoques de gorduras, PERI, RET, MES e ING, respectivamente, quando comparados ao grupo NN-MS. Os grupos NR-ME apresentaram aumento de 45,45% ($p < 0,005$), 59,60% ($p < 0,001$), 45,71% ($p < 0,001$) e 40% ($p < 0,05$) nos estoques de gorduras, PERI, RET, MES e ING, respectivamente, quando comparados ao grupo NN-ME, Figura 10ABCD. No entanto quando comparamos os grupos F_2 filhos de mães sedentárias e exercitadas não há diferença significativa entre os grupos.

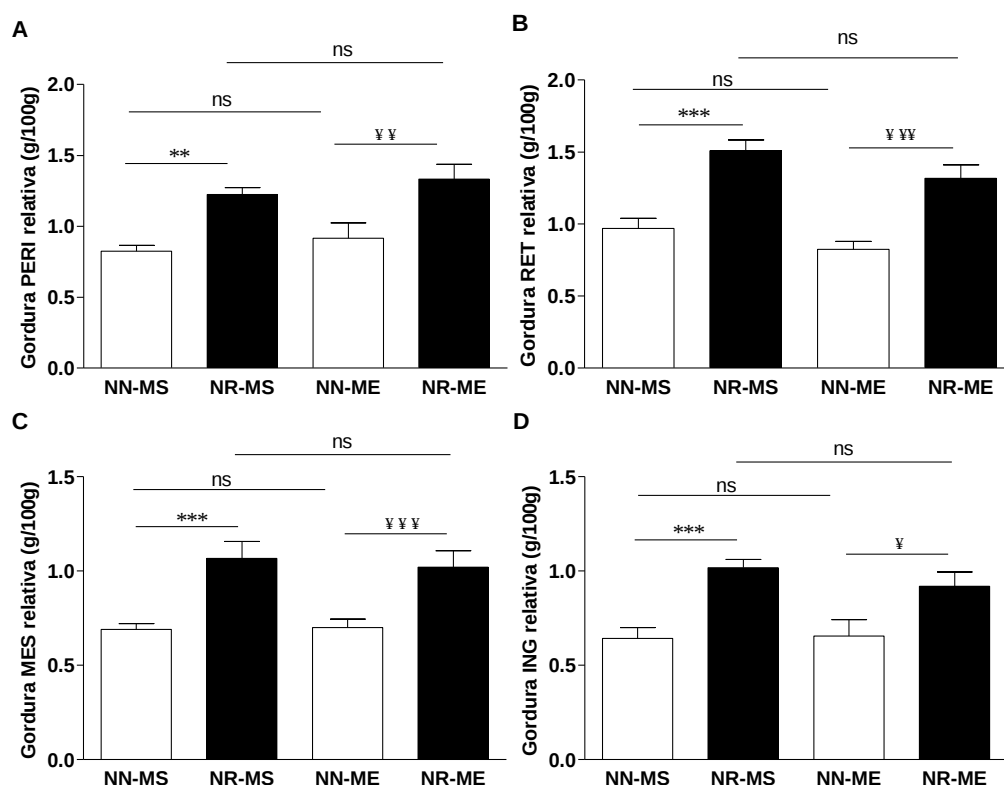


Figura 10 – principais estoques de gordura corporal da prole aos 90 dias de idade. (A) Gordura periepididimal, (B) gordura retroperitoneal, (C) gordura mesentérica, (D) gordura inguinal. Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). * $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; # $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME; § $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; ¥ $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME, One-way ANOVA, pós teste de Tukey.

5.8 Glicemia de jejum aos 90 dias (F_2).

Os resultados obtidos demonstram que os ratos programados a obesidade por NR, apresentaram-se hiperglicêmicos em relação ao grupo de NN. O grupo NR-MS apresentou glicemia 14,28% maior que o grupo NN-MS e o grupo NR-ME 12,49% maior que NN-ME, Figura 7. Confirmando que ratos de NR apresentam índices glicêmicos superiores a ratos de NN.

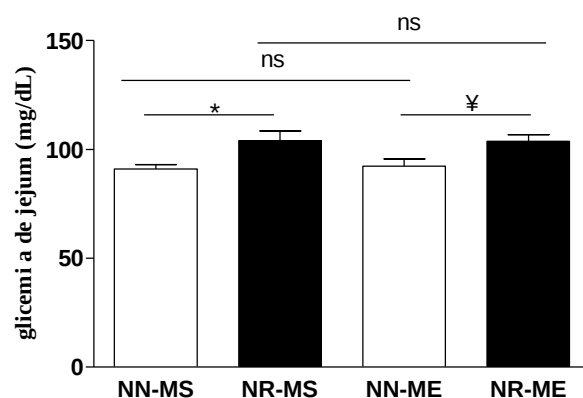


Figura 11 – Glicemia de jejum aos 90 dias (F_2). Todos os valores representam a média $\pm$ EPM ($n = 10 - 12$). * $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; # $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME; § $p < 0,05$, NN-MS versus NR-MS; ¥ $p < 0,05$, NN-ME versus NR-ME, *One-way ANOVA*, pós teste de *Tukey*.

6 DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que ratas normais submetidas a um protocolo de exercício físico moderado, apresentaram diferenças no ganho de peso corporal e ingestão alimentar durante todo período experimental. Schroeder (2010) demonstrou que o exercício voluntário aplicado a ratas normais dos 21 aos 40 dias de vida, levou a um aumento do peso corporal e da ingestão alimentar, no entanto não houve aumento nem redução dos estoques de gordura corporal (65).

Embora não tenhamos aferido a diferença entre a massa muscular das ratas exercitadas e não exercitadas ao término do protocolo de exercício físico, sugerimos que o maior peso corporal observado em fêmeas exercitadas deve-se a um possível aumento na massa muscular. Estudos com exercício moderado, tanto em humanos, quanto em roedores (ratos e camundongos), apresentaram resultados importantes no que se refere ao aumento da massa muscular (65, 112).

Mães exercitadas comparadas às sedentárias apresentaram menores estoques de gordura corporal, confirmando dados da literatura de que o exercício físico pode promover o aumento do gasto energético, devido sua capacidade de possibilitar a redução dos estoques de gordura, por meio do aumento da atividade do SNS (92-93).

O exercício físico tem sido caracterizado como um importante atenuador do desenvolvimento da obesidade, assim também como uma ferramenta de prevenção da instalação da obesidade (77). Estudos epidemiológicos e experimentais mostram que o exercício físico, quando realizado durante gestação, pode apresentar efeitos benéficos sobre alguns dos marcadores da síndrome metabólica, ao mesmo tempo em que não afeta o tamanho/peso fetal (113-114).

A hipótese do fenótipo da economia - "*thrifty phenotype hypothesis*", de Barker; sugere que o desenvolvimento e instalação de patologias na vida adulta, podem ser originados por meio de mudanças ambientais ocorridas na vida perinatal, como obesidade, desnutrição, hiper-alimentação, cardiopatias, DM2, hipertensão arterial e distúrbios psicológicos maternos, além de uso excessivo de fármacos, e exposição intensa a agentes estressores, que podem fazer com que os filhos sejam

mais susceptíveis a hiperfagia, baixa estatura, hipogonadismo e desenvolvimento da obesidade, (43).

A superalimentação durante fases críticas do desenvolvimento tais como, gestão e lactação, pode acarretar severas alterações em células/circuitos neurais envolvidos na sinalização e controle da ingestão alimentar e massa corpórea (115). Confirmando a importância dessa fase da vida para o desenvolvimento do SNC (116).

Na vida perinatal, mais especificamente na lactação, os animais receberam uma quantidade excessiva de nutrientes no aleitamento, devido à redução da prole, NR. Na lactação ocorre intenso processo de conexão entre neurônios para que haja desenvolvimento do SNC (117), dessa forma a lactação é extremamente vulnerável a distúrbios do meio ambiente que possam levar a uma programação metabólica (60). Os animais induzidos à obesidade por NR, apresentaram quadros de hiperfagia, hiperglicemia e obesidade na vida adulta. Em estudos realizados por Plagemann e colaboradores (1999) a NR promove um *imprint* metabólico, que pode levar a alterações na estrutura e na função de áreas hipotalâmicas, como por exemplo, baixa resposta a estímulos anorexigênicos no VMH (85, 118).

Ao compararmos os animais F_2 , filhos de mães exercitadas com filhos de mães sedentárias, não obtivemos diferença significativa quanto a não instalação e desenvolvimento da obesidade. No entanto, devemos ressaltar que as ratas F_1 , só foram submetidas a um programa de exercício até o final do período gestacional. Sobretudo, a vida perinatal, compreende o período de vida intra-uterina e lactacional (87).

Sugerimos que o exercício aplicado no período lactacional, talvez pudesse implicar efeitos benéficos, possibilitando o não desenvolvimento da obesidade na prole. A lactação pode ser classificada como uma importante “janela metabólica”, na qual, podem ocorrer alterações epigenéticas (20, 119-120), uma vez que injúrias ocorridas nesse período podem levar a alterações metabólicas irreversíveis na vida adulta (87).

Nosso grupo publicou resultados que confirmam, que ratos programados a obesidade por dieta pobre em proteína (4%), ingerida pela mãe, durante a vida perinatal, apresentaram alterações metabólicas, tais como, menor

atividade insulíntrica do SNA em resposta a menor responsividade colinérgica (121) e menor tônus parassimpático (122).

É importante ressaltar que os animais F_2 sofreram a influência de duas possíveis programações metabólicas, a primeira, do exercício físico durante a gestação e a segunda durante a lactação, devido aos efeitos da hiper-alimentação através da redução de ninhada. Alterações, ocorridas durante a vida perinatal, não seriam prejudiciais ao indivíduo, se este ao nascer se mantivesse em um ambiente com as mesmas condições à que se encontrava durante a vida intra-uterina (123).

Ao nascimento, os animais F_2 foram submetidos a um ambiente de abundância alimentar e as sessões de exercício realizadas pelas mães foram encerradas. Talvez nossos resultados possam ser justificados, com a sugestão de que o exercício deveria ser mantido até o final da lactação, ou ainda, que a superalimentação sofrida após o nascimento pelas proles tenha implicado em uma programação tão severa que não poderia ser revertida pelos efeitos do exercício físico. Uma vez que alterações com maior oferta nutricional na vida pós-natal, podem se tornar prejudiciais, provocando prejuízo metabólico na vida adulta, como por exemplo, maior capacidade de armazenar gordura, aumento do peso corporal e da possibilidade da instalação e desenvolvimento de síndrome metabólica (55, 87, 123).

Foi selecionado para este estudo um protocolo de exercício de baixa frequência e intensidade moderada (64), primeiramente para que o exercício não se tornasse um agente estressor, podendo ocasionar redução do número da prole ou mesmo aborto. Dados experimentais mostram que insultos provocados por estresse prolongado durante a vida perinatal, pode levar a um quadro de obesidade e comorbidades na vida adulta (61). Em segundo lugar, resultados já publicados por nosso grupo demonstram que o mesmo foi eficaz para impedir o desenvolvimento da síndrome metabólica em ratos programados por NR (124).

Nesta pesquisa não foram registrados efeitos deletérios ocasionados pelo treinamento como aborto, redução do número da prole ou aumento do peso dos filhotes ao nascer, confirmando dados da literatura (113-114). Sobretudo, devemos ressaltar que o exercício nas mães, levou à redução dos estoques de gordura corporal, sugerindo um possível ambiente de escassez alimentar para os filhotes durante a vida perinatal.

Possibilitando o surgimento de características de economia metabólica na vida pós natal, decorrente de uma suposta impressão metabólica na prole que passaria adquirir “genes Poupadores de energia”, representando maior facilidade em acumular gordura corporal, uma vez que estariam melhor preparados para sobreviver a escassez de alimentos (56). Quando estes animais foram sujeitados a um ambiente obesogênico, com abundância na oferta alimentar, possivelmente tornaram-se mais susceptíveis á obesidade (56).

Sobretudo, se os animais, após o nascimento fossem submetidos á condições ambientais semelhantes ao ambiente perinatal (exercício físico na mãe durante a gestação e na prole após o desmame) a predisposição á obesidade pudesse ser suprimida (55, 87, 123).

O exercício de baixa intensidade aplicado logo após o desmame, é capaz de impedir o desenvolvimento da síndrome metabólica na vida adulta tanto em camundongos quanto em ratos machos, programados para obesidade (77).

Estudos realizados em nosso grupo revelaram que o exercício de natação de baixa intensidade, realizado apenas 3 vezes por semana com duração de 15 minutos, aplicado a camundongos tratados com MSG, logo após o desmame foi capaz de impedir a instalação da obesidade, recuperar a atividade do eixo simpatoadrenal, minimizar os depósitos de gordura e normalizar os níveis sanguíneos insulina e glicemia (125).

Também demonstraram, efeito positivo sobre a normalização nos níveis de colesterol total e triglicéride (126). Proporcionando ainda, aumento da atividade simpática, redução da atividade parassimpática. Sugerindo que desequilíbrio e disfunções metabólicas da atividade autonômica característica da obesidade MSG foram inibidas por programa de exercício moderado iniciado precocemente (77).

Também demonstramos por meio de outro estudo, que o exercício de natação de baixa intensidade em camundongos MSG (15 min / dia, 3 dias por semana) em diferentes idades, reduz os estoques de gordura e aumenta o conteúdo de catecolaminas, quando iniciado em idades mais jovens, logo após o desmame (125).

Nossos resultados apontam a necessidade de novos estudos que investiguem os efeitos do exercício físico moderado na gestação como instrumento propulsor na prevenção e/ou tratamento da síndrome metabólica, uma vez que este tem sido caracterizado como uma importante ferramenta de profilaxia e/ou tratamento da obesidade.

7 CONCLUSÃO

Com base nos nossos resultados podemos concluir que:

- 1) Embora os resultados de exercício realizado pela mãe, não garantiu efeito protetor contra a programação metabólica causada pela injúria ocorrida na fase perinatal em F₂, proporcionou efeitos positivos nas mães, como a redução dos principais estoques de gordura.
- 2) O consumo excessivo de nutrientes na lactação (NR) levou a prole (F₂) a um quadro de hiperfagia, aumento do peso corporal e maiores estoques de gordura.
- 3) Este estudo promove a abertura de novas possibilidades de investigação e consequente caracterização fisiológica deste modelo experimental, sabendo que o exercício físico pode ser um importante aliado no tratamento e/ou prevenção da obesidade; além de pesquisas que investiguem também o efeito deste em fêmeas em diferentes fases de desenvolvimento, iniciando precocemente, perdurando ao longo da vida, durante a gestação e lactação.

REFERÊNCIAS

1. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*. 2005 Jan 21;307(5708):384-7.
2. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8;100(14):8466-71.
3. Mendonca CP, Anjos LA. Aspectos das práticas alimentares e da atividade física como determinantes do crescimento do sobrepeso/obesidade no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 2004 20(3):698-709.
4. Anjos LA. Obesidade nas sociedades contemporâneas: o papel da dieta e da inatividade física. *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Atividade Física e Saúde*. 2001.
5. Bouchard C. Atividade física e obesidade. São Paulo: Manole; 2003.
6. Forjaz CL, Tinucci T, Bartholomeu T, Fernandes TE, Casagrande V, Massucato JG. Assessment of the cardiovascular risk and physical activity of individuals exercising at a public park in the city of sao paulo. *Arq Bras Cardiol*. 2002 Jul;79(1):35-50.
7. Lancaster AR, Lee JA, Hovda LR, Hardy BT, Miyahara LX, Martin EP, et al. Sleep aid toxicosis in dogs: 317 cases (2004-2010). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2011 Dec;21(6):658-65.
8. Carvalheira JB, Saad MJ. [Insulin resistance/hyperinsulinemia associated diseases not included in the metabolic syndrome]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006 Apr;50(2):360-7.
9. Guedes DP, Guedes JE. [Body fat distribution, blood pressure and plasma lipids and lipoprotein levels]. *Arq Bras Cardiol*. 1998 Feb;70(2):93-8.
10. Monteiro CA, Mondini L, Costa RB. [Changes in composition and appropriate nutrition of family diet in the metropolitan areas of Brazil (1988-1996)]. *Rev Saude Publica*. 2000 Jun;34(3):251-8.
11. Bray GA, Paeratakul S, Popkin BM. Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies. *Physiol Behav*. 2004 Dec 30;83(4):549-55.
12. Kimber NE, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Dyck DJ. Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. *J Physiol*. 2003 May 1;548(Pt 3):919-27.
13. Janesick A, Blumberg B. Minireview: PPARgamma as the target of obesogens. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011 Jan 18.
14. Hickey MS, Calsbeek DJ. Plasma leptin and exercise: recent findings. *Sports Med*. 2001;31(8):583-9.
15. Enes CC, Slater B. [Obesity in adolescence and its main determinants]. *Rev Bras Epidemiol*. 2010 Mar;13(1):163-71.
16. Plonka M, Toton-Morys A, Adamski P, Suder A, Bielanski W, Dobrzanska MJ, et al. Association of the physical activity with leptin blood serum level, body mass indices and obesity in schoolgirls. *J Physiol Pharmacol*. 2011 Dec;62(6):647-56.
17. Sowers M, Karvonen-Gutierrez CA, Palmieri-Smith R, Jacobson JA, Jiang Y, Ashton-Miller JA. Knee osteoarthritis in obese women with cardiometabolic clustering. *Arthritis Rheum*. 2009 Oct 15;61(10):1328-36.
18. Finlayson G, King N, Blundell JE. Is it possible to dissociate 'liking' and 'wanting' for foods in humans? A novel experimental procedure. *Physiol Behav*. 2007 Jan 30;90(1):36-42.

19. Brown KM, Bujac SR, Mann ET, Campbell DA, Stubbins MJ, Blundell JE. Further evidence of association of OPRD1 & HTR1D polymorphisms with susceptibility to anorexia nervosa. *Biol Psychiatry*. 2007 Feb 1;61(3):367-73.
20. Sichieri R, Siqueira KS, Moura AS. Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000 May;24(5):614-8.
21. Cameron AJ, Welborn TA, Zimmet PZ, Dunstan DW, Owen N, Salmon J, et al. Overweight and obesity in Australia: the 1999-2000 Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study (AusDiab). *Med J Aust*. 2003 May 5;178(9):427-32.
22. Donma MM, Donma O. Low birth weight: a possible risk factor also for liver diseases in adult life? *Med Hypotheses*. 2003 Oct;61(4):435-8.
23. Sanchez A, Norman GJ, Sallis JF, Calfas KJ, Rock C, Patrick K. Patterns and correlates of multiple risk behaviors in overweight women. *Prev Med*. 2008 Mar;46(3):196-202.
24. Sorensen TI, Holst C, Stunkard AJ. Childhood body mass index--genetic and familial environmental influences assessed in a longitudinal adoption study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1992 Sep;16(9):705-14.
25. Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med*. 1997 Sep 25;337(13):869-73.
26. Faith MS, Pietrobelli A, Nunez C, Heo M, Heymsfield SB, Allison DB. Evidence for independent genetic influences on fat mass and body mass index in a pediatric twin sample. *Pediatrics*. 1999 Jul;104(1 Pt 1):61-7.
27. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle. *Diabetes*. 2004 May;53(5):1208-14.
28. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: molecular mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006 Apr;33(4):395-9.
29. McGee SL, van Denderen BJ, Howlett KF, Mollica J, Schertzer JD, Kemp BE, et al. AMP-activated protein kinase regulates GLUT4 transcription by phosphorylating histone deacetylase 5. *Diabetes*. 2008 Apr;57(4):860-7.
30. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr*. 2005 Jun;135(6):1382-6.
31. Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, Lavoie ME, Mill J, Perusse L, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*. 2010 Feb;91(2):309-20.
32. Ling C, Groop L. Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2009 Dec;58(12):2718-25.
33. Blundell JE. Perspective on the central control of appetite. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Jul;14 Suppl 4:160S-3S.
34. Lima SC, Arrais RF, Almeida MG, Souza ZM, Pedrosa LF. [Plasma lipid profile and lipid peroxidation in overweight or obese children and adolescents]. *J Pediatr (Rio J)*. 2004 Jan-Feb;80(1):23-8.
35. Woods SC, Schwartz MW, Baskin DG, Seeley RJ. Food intake and the regulation of body weight. *Annu Rev Psychol*. 2000;51:255-77.
36. Thompson RH, Swanson LW. Organization of inputs to the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a reexamination with Fluorogold and PHAL in the rat. *Brain Res Brain Res Rev*. 1998 Jul;27(2):89-118.

37. Sipols AJ, Baskin DG, Schwartz MW. Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. *Diabetes*. 1995 Feb;44(2):147-51.
38. Simpson KA, Martin NM, Bloom SR. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009 Mar;53(2):120-8.
39. Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci*. 2003 Jul;6(7):736-42.
40. Huber KM, Gallagher SM, Warren ST, Bear MF. Altered synaptic plasticity in a mouse model of fragile X mental retardation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 May 28;99(11):7746-50.
41. Gobatto CA, Mello MA, Souza CT, Ribeiro IA. The monosodium glutamate (MSG) obese rat as a model for the study of exercise in obesity. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2002;111(1-4):89-101.
42. White LS. Conducting school-based research: lessons learned from an after-school intervention study. *J Pediatr Health Care*. 2012 Jan-Feb;26(1):75-9.
43. Barker DJ. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest*. 1995 Jul;25(7):457-63.
44. Gurrieri F, Accadia M. Genetic imprinting: the paradigm of Prader-Willi and Angelman syndromes. *Endocr Dev*. 2009;14:20-8.
45. Momparler RL. Cancer epigenetics. *Oncogene*. 2003 Sep 29;22(42):6479-83.
46. Wolffe AP, Matzke MA. Epigenetics: regulation through repression. *Science*. 1999 Oct 15;286(5439):481-6.
47. Weksberg R, Shuman C, Smith AC. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005 Aug 15;137C(1):12-23.
48. Delaval K, Wagschal A, Feil R. Epigenetic deregulation of imprinting in congenital diseases of aberrant growth. *Bioessays*. 2006 May;28(5):453-9.
49. Paulsen M, Ferguson-Smith AC. DNA methylation in genomic imprinting, development, and disease. *J Pathol*. 2001 Sep;195(1):97-110.
50. Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet*. 2000 Oct;9(16):2395-402.
51. Shi Y. Histone lysine demethylases: emerging roles in development, physiology and disease. *Nat Rev Genet*. 2007 Nov;8(11):829-33.
52. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet*. 2009 Jan;10(1):32-42.
53. Gronbaek K, Hother C, Jones PA. Epigenetic changes in cancer. *Apmis*. 2007 Oct;115(10):1039-59.
54. Mattick JS, Makunin IV. Non-coding RNA. *Hum Mol Genet*. 2006 Apr 15;15 Spec No 1:R17-29.
55. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992 Jul;35(7):595-601.
56. Poulsen P, Vaag A. The impact of genes and pre- and postnatal environment on the metabolic syndrome. Evidence from twin studies. *Panminerva Med*. 2003 Jun;45(2):109-15.
57. Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet*. 1962 Dec;14:353-62.
58. Saenger P, Czernichow P, Hughes I, Reiter EO. Small for gestational age: short stature and beyond. *Endocr Rev*. 2007 Apr;28(2):219-51.

59. Olander EK, Atkinson L, Edmunds JK, French DP. Promoting healthy eating in pregnancy: What kind of support services do women say they want? *Prim Health Care Res Dev*. 2012 Feb 7;1-7.
60. Blakemore SJ, Burnett S, Dahl RE. The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp*. 2010 Jun;31(6):926-33.
61. Lesage J, Sebaai N, Leonhardt M, Dutriez-Casteloot I, Breton C, Deloof S, et al. Perinatal maternal undernutrition programs the offspring hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Stress*. 2006 Dec;9(4):183-98.
62. 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. *Horm Metab Res*. 2012 Mar 21.
63. Plagemann A, Harder T, Rake A, Voits M, Fink H, Rohde W, et al. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res*. 1999 Jul 31;836(1-2):146-55.
64. Negrao CE, Moreira ED, Santos MC, Farah VM, Krieger EM. Vagal function impairment after exercise training. *J Appl Physiol*. 1992 May;72(5):1749-53.
65. Schroeder M, Shbiro L, Gelber V, Weller A. Post-weaning voluntary exercise exerts long-term moderation of adiposity in males but not in females in an animal model of early-onset obesity. *Horm Behav*. 2010 Apr;57(4-5):496-505.
66. Barker DJ. The developmental origins of well-being. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2004 Sep 29;359(1449):1359-66.
67. Kanasaki K, Koya D. Biology of obesity: lessons from animal models of obesity. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:197636.
68. Shaw AM, Irani BG, Moore MC, Haskell-Luevano C, Millard WJ. Ghrelin-induced food intake and growth hormone secretion are altered in melanocortin 3 and 4 receptor knockout mice. *Peptides*. 2005 Oct;26(10):1720-7.
69. Munzberg H, Myers MG, Jr. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci*. 2005 May;8(5):566-70.
70. Campfield LA, Smith FJ, Burn P. The OB protein (leptin) pathway--a link between adipose tissue mass and central neural networks. *Horm Metab Res*. 1996 Dec;28(12):619-32.
71. Grant WB. Obesity and Alzheimer disease: roles of diet and genetics. *Arch Intern Med*. 2004 Jan 12;164(1):109-10; author reply 10.
72. Kanemoto N, Hishigaki H, Miyakita A, Oga K, Okuno S, Tsuji A, et al. Genetic dissection of "OLETF", a rat model for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Mamm Genome*. 1998 Jun;9(6):419-25.
73. Sone H, Takahashi A, Iida K, Yamada N. Disease model: hyperinsulinemia and insulin resistance. Part B--polygenic and other animal models. *Trends Mol Med*. 2001 Aug;7(8):373-6.
74. Scheurink AJ, Steffens AB. Central and peripheral control of sympathoadrenal activity and energy metabolism in rats. *Physiol Behav*. 1990 Dec;48(6):909-20.
75. Al-Azzawi HH, Mathur A, Lu D, Swartz-Basile DA, Nakeeb A, Pitt HA. Pioglitazone increases gallbladder volume in insulin-resistant obese mice. *J Surg Res*. 2006 Dec;136(2):192-7.
76. Scoaris CR, Rizo GV, Roldi LP, de Moraes SM, de Proenca AR, Peralta RM, et al. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. *Nutrition*. 2010 Mar;26(3):312-20.
77. 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.
78. Dawson R, Pellemounter MA, Millard WJ, Liu S, Eppler B. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. *Am J Physiol*. 1997 Jul;273(1 Pt 1):E202-6.
 79. Semprini ME, Conti L, Ciofi-Luzzatto A, Mariani A. Effect of oral administration of monosodium glutamate (MSG) on the hypothalamic arcuate region of rat and mouse: a histological assay. *Biomedicine*. 1974 Oct 10;21(10):398-403.
 80. Xu L, Zhao Y, Zhan SQ, Tang XD, Guo Y, Wang HS, et al. Temporal and spatial expression of preprotachykinin A mRNA in the developing filial mice brain after maternal administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy. *Neuroscience*. 2007 Mar 30;145(3):974-80.
 81. Lucinei Balbo S, Gravena C, Bonfleur ML, de Freitas Mathias PC. Insulin secretion and acetylcholinesterase activity in monosodium l-glutamate-induced obese mice. *Horm Res*. 2000;54(4):186-91.
 82. Grassioli S, Gravena C, de Freitas Mathias PC. Muscarinic M2 receptor is active on pancreatic islets from hypothalamic obese rat. *Eur J Pharmacol*. 2007 Feb 5;556(1-3):223-8.
 83. Balbo SL, Bonfleur ML, Carneiro EM, Amaral ME, Filiputti E, Mathias PC. Parasympathetic activity changes insulin response to glucose and neurotransmitters. *Diabetes Metab*. 2002 Dec;28(6 Pt 2):3S13-7; discussion 3S108-12.
 84. Martins AC, Souza KL, Shio MT, Mathias PC, Lelkes PI, Garcia RM. Adrenal medullary function and expression of catecholamine-synthesizing enzymes in mice with hypothalamic obesity. *Life Sci*. 2004 May 14;74(26):3211-22.
 85. Rodrigues AL, De Souza EP, Da Silva SV, Rodrigues DS, Nascimento AB, Barja-Fidalgo C, et al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. *J Endocrinol*. 2007 Dec;195(3):485-94.
 86. Chekanov S, Derrick M, Magill S, Musgrave B, Nicholass D, Repond J, et al. Inclusive K(S);(0)K(S);(0) resonance production in ep collisions at HERA. *Phys Rev Lett*. 2008 Sep 12;101(11):112003.
 87. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*. 2001;60:5-20.
 88. Kiba T, Tanaka K, Inoue S, Endo O, Takamura Y. Comparison of DNA contents of visceral organs in rats with ventromedial hypothalamic lesions and fed a high fat diet. *Neurosci Lett*. 1991 May 27;126(2):127-30.
 89. Zheng J, DiLorenzo DJ, McLaughlin L, Roberts AT, Greenway FL. Stimulation of sympathetic innervation in the upper gastrointestinal tract as a treatment for obesity. *Med Hypotheses*. 2009 Jun;72(6):706-10.
 90. Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, Koh T, Hosotsubo H, Nakamori Y, et al. Activated polymorphonuclear leukocytes enhance production of leukocyte microparticles with increased adhesion molecules in patients with sepsis. *J Trauma*. 2002 Mar;52(3):443-8.
 91. Eriksson J, Taimela S, Koivisto VA. Exercise and the metabolic syndrome. *Diabetologia*. 1997 Feb;40(2):125-35.
 92. Iyer S, Monteiro MF. The risk of child and adolescent mortality among vulnerable populations in Rio de Janeiro, Brazil. *J Biosoc Sci*. 2004 Sep;36(5):523-46.
 93. Silverthorn DU. Teaching career enhancement awards: an opportunity not to miss. *Adv Physiol Educ*. 2003 Dec;27(1-4):1-2.
 94. Inoue S, Bray GA. An autonomic hypothesis for hypothalamic obesity. *Life Sci*. 1979 Aug 13;25(7):561-6.
 95. Achten J, Jeukendrup AE. Heart rate monitoring: applications and limitations. *Sports Med*. 2003;33(7):517-38.

96. Scheurink AJ, Steffens AB, Roossien B, Balkan B. Sympathoadrenal function in genetically obese Zucker rats. *Physiol Behav.* 1992 Oct;52(4):679-85.
97. Fabregat ME, Gasa R, Rodriguez C, Novials A, Gallart T, Malaisse WJ, et al. Autoantibodies against mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase in patients with IDDM. *Diabetes Res Clin Pract.* 1997 Nov;38(2):115-21.
98. de Souza CT, Nunes WM, Gobatto CA, de Mello MA. Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training. *Physiol Chem Phys Med NMR.* 2003;35(1):43-53.
99. Kirwan JP, del Aguila LF. Insulin signalling, exercise and cellular integrity. *Biochem Soc Trans.* 2003 Dec;31(Pt 6):1281-5.
100. Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Med.* 2008;38(5):401-23.
101. Adamu B, Sani MU, Abdu A. Physical exercise and health: a review. *Niger J Med.* 2006 Jul-Sep;15(3):190-6.
102. Bray GA, Champagne CM. Obesity and the Metabolic Syndrome: implications for dietetics practitioners. *J Am Diet Assoc.* 2004 Jan;104(1):86-9.
103. Wasserman K, Whipp BJ, Koyl SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol.* 1973 Aug;35(2):236-43.
104. Spurway NC. Aerobic exercise, anaerobic exercise and the lactate threshold. *Br Med Bull.* 1992 Jul;48(3):569-91.
105. Gaskill SE, Ruby BC, Walker AJ, Sanchez OA, Serfass RC, Leon AS. Validity and reliability of combining three methods to determine ventilatory threshold. *Med Sci Sports Exerc.* 2001 Nov;33(11):1841-8.
106. Achten J, Jeukendrup AE. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med.* 2003 Nov;24(8):603-8.
107. Ahmaidi S, Hardy JM, Varray A, Collomp K, Mercier J, Prefaut C. Respiratory gas exchange indices used to detect the blood lactate accumulation threshold during an incremental exercise test in young athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1993;66(1):31-6.
108. Wegener G, Krause U, Newsholme EA. Metabolic regulation--physiological and medical aspects. *Experientia.* 1996 May 15;52(5):391-5.
109. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, et al. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet.* 2003 Jul;34(3):267-73.
110. Patterson CM, Dunn-Meynell AA, Levin BE. Three weeks of early-onset exercise prolongs obesity resistance in DIO rats after exercise cessation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008 Feb;294(2):R290-301.
111. Trinder P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. *J Clin Pathol.* 1969 Mar;22(2):246.
112. Ip TY, Peterson J, Byrner R, Tou JC. Bone responses to body weight and moderate treadmill exercising in growing male obese (fa/fa) and lean Zucker rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2009 Jul-Sep;9(3):155-66.
113. Stutzman SS, Brown CA, Hains SM, Godwin M, Smith GN, Parlow JL, et al. The effects of exercise conditioning in normal and overweight pregnant women on blood pressure and heart rate variability. *Biol Res Nurs.* 2010 Oct;12(2):137-48.
114. Mottola M, Bagnall KM, McFadden KD. The effects of maternal exercise on developing rat fetuses. *Br J Sports Med.* 1983 Jun;17(2):117-21.
115. Davidowa H, Plagemann A. Different responses of ventromedial hypothalamic neurons to leptin in normal and early postnatally overfed rats. *Neurosci Lett.* 2000 Oct 20;293(1):21-4.

116. Morgane PJ, Austin-LaFrance R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev*. 1993 Spring;17(1):91-128.
117. Markakis EA. Development of the neuroendocrine hypothalamus. *Front Neuroendocrinol*. 2002 Jul;23(3):257-91.
118. Plagemann A, Harder T, Rake A, Janert U, Melchior K, Rohde W, et al. Morphological alterations of hypothalamic nuclei due to intrahypothalamic hyperinsulinism in newborn rats. *Int J Dev Neurosci*. 1999 Feb;17(1):37-44.
119. Barker DJ, Bagby SP, Hanson MA. Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006 Dec;2(12):700-7.
120. Simeoni U, Barker DJ. Offspring of diabetic pregnancy: long-term outcomes. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009 Apr;14(2):119-24.
121. Gravena C, Andreazzi AE, Mecabo FT, Grassioli S, Scantamburlo VM, Mathias PC. Protein restriction during lactation alters the autonomic nervous system control on glucose-induced insulin secretion in adult rats. *Nutr Neurosci*. 2007 Feb-Apr;10(1-2):79-87.
122. de Oliveira JC, Scomparin DX, Andreazzi AE, Branco RC, Martins AG, Gravena C, et al. Metabolic imprinting by maternal protein malnourishment impairs vagal activity in adult rats. *J Neuroendocrinol*. 2011 Feb;23(2):148-57.
123. Diderholm B. Perinatal energy metabolism with reference to IUGR & SGA: studies in pregnant women & newborn infants. *Indian J Med Res*. 2009 Nov;130(5):612-7.
124. Darnaudery M, Louvart H, Defrance L, Leonhardt M, Morley-Fletcher S, Gruber SH, et al. Impact of an intense stress on ethanol consumption in female rats characterized by their pre-stress preference: modulation by prenatal stress. *Brain Res*. 2007 Feb 2;1131(1):181-6.
125. 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 Sci*. 2006 Oct 26;79(22):2151-6.
126. 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. *Endocr Res*. 2011;36(2):83-90.