

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

GABRIEL SERGIO FABRICIO

**SUPER ALIMENTAÇÃO NA
INFÂNCIA, COMPROMETE O $VO_{2\text{máx.}}$
DE RATOS SUBMETIDOS A UM
PROGRAMA DE TREINAMENTO
FÍSICO MODERADO**

Maringá
2014

GABRIEL SERGIO FABRICIO

**SUPER ALIMENTAÇÃO NA INFÂNCIA,
COMPROMETE O $VO_{2máx.}$ DE RATOS
SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE
TREINAMENTO FÍSICO MODERADO**

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

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rinaldi
Coorientadora: Késia Gemima Palma Rigo Wutzow

Maringá
2014

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

F126s Fabricio, Gabriel Sergio
Super alimentação na infância compromete o $VO_{2máx}$
de ratos submetidos a um programa de treinamento
físico moderado / Gabriel Sergio Fabricio. --
Maringá, 2014.
xii, 64 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rinaldi.
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Kesia Gemima Palma
Rigo Wutzow.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento
De Educação Física, Programa de Pós-Graduação em
Educação Física, 2014.

1. Obesidade - Doenças metabólicas. 2.
Treinamento físico moderado. 3. $VO_{2máx}$. 4.
Programação metabólica. I. Rinaldi, Wilson, orient.
II. Palma-Rigo, Kesia, coorient. III. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde.
Programa de Pós-Graduação em Educação Física. IV.
Título.

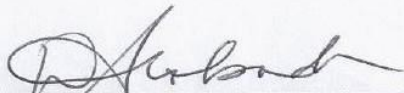
CDD 22.ed. 613.7

GABRIEL SERGIO FABRÍCIO

**SUPER ALIMENTAÇÃO NA INFÂNCIA,
COMPROMETE O $VO_{2MÁX}$. DE RATOS
SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE
TREINAMENTO FÍSICO MODERADO**

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

APROVADA em 20 de fevereiro de 2014.



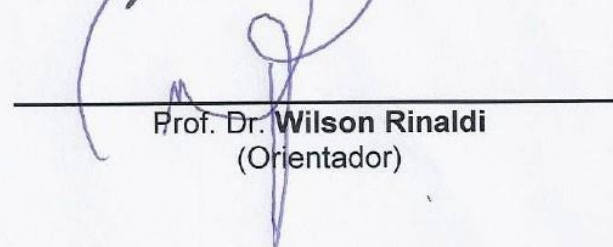
Prof. Dra. **Deborah Sloboda**



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



Prof. Dr. **Paulo Cezar de Freitas Mathias**



Prof. Dr. **Wilson Rinaldi**
(Orientador)

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família em especial aos meus pais Sebastião Sergio Fabricio e Maria Aparecida Rocha Fabricio, que mesmo antes de eu nascer já me apoiavam e torciam por mim.

Agradecimentos

Por meio destes agradecimentos, quero dizer muito obrigado a algumas pessoas que foram de suma importância não só na construção deste trabalho como também durante minha vida acadêmica.

Além de ter dedicado este trabalho a eles, gostaria também agradecer minha família, especialmente meus pais Sebastião e Maria Aparecida, que sempre me deram forças me incentivando e me ajudando a superar as dificuldades da vida.

Agradeço ao departamento de Educação Física da Universidade Estadual de Maringá, bem como ao programa de Pós-Graduação associado UEM/UEL. Em especial ao Professor Drº. Wilson Rinaldi, que um dia, há muitos anos atrás acreditou em mim, me convidando para ser aluno de iniciação científica dando a oportunidade de descobrir a pesquisa.

Agradeço a todos meus amigos que estiveram comigo desde o começo da caminhada na faculdade, especialmente aos companheiros que frequentam, bem como os moradores, da famosa “HUMILDE RESIDÊNCIA”

Agradeço também ao LBCS – Laboratório da Biologia Celular e Secreção, principalmente ao Professor Drº Paulo Cezar de Freitas Mathias que além de um grande amigo, abriu as portas do seu laboratório, me ajudando com a pesquisa em todos os sentidos. E a Késia que além de ser uma grande amiga me ajudou na elaboração deste trabalho desde o início do projeto, bem como nos futuros frutos do mesmo.

A todos vocês, meu muito obrigado de coração.

FABRICIO, Gabriel Sergio. **SUPER ALIMENTAÇÃO NA INFÂNCIA, COMPROMETE O $VO_{2máx}$. DE RATOS SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE TREINAMENTO FÍSICO MODERADO**. 2013. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Programa de Pós – Graduação associado UEM/UEL. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

RESUMO

Introdução: A obesidade é considerada como um grande problema de saúde pública, tendo de forma geral, como principal causa o excesso alimentar juntamente com uma diminuição dos gastos calóricos. Promovendo o surgimento de diversas doenças como o Diabetes tipo 2. Sabe-se que o excesso de peso é fator determinante nos níveis absolutos de captação máxima de oxigênio ($VO_{2máx}$), e o exercício físico é uma importante ferramenta para tratamento e prevenção deste quadro. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar se a programação metabólica para a obesidade por meio de processo de ninhada reduzida, pode comprometer os níveis absolutos de $VO_{2máx}$ de ratos submetidos a diferentes programas de treinamento físico ao longo da vida. **Metodologia:** Ratas Wistar prenhas foram alocadas separadamente em caixas individuais. Após o nascimento as ninhadas foram ajustadas para 9 filhotes (Ninhada Normal – NN). Para o processo de Ninhada Reduzida (NR), no 3º dia após o nascimento, a ninhada foi reduzida para 3 filhotes por lactante, para indução da super alimentação. Aos 21 dias as ninhadas foram padronizadas em 3 animais por caixa e divididas da seguinte forma: NN sedentária (NN SED), NN exercitado Negrão (NN NE) e NN exercitado Novo protocolo (NN NP) e NR sedentária (NR SED), NR exercitado Negrão (NR NE) e NR exercitado Novo protocolo (NR NP). Somente animais machos foram utilizados. Entre os 21 e 90 dias de vida os animais foram submetidos aos seus respectivos protocolos de treinamento em esteira (intensidade moderada). Aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias de vida, todos os animais inclusive os sedentários foram submetidos a um teste de esforço máximo para determinação do $VO_{2máx}$. Aos 90 dias de vida, após o último teste de esforço, os animais foram mantidos em jejum por um período de 12 horas, para realização do teste intravenoso de tolerância a glicose (ivGTT). Logo após, os animais foram sacrificados com dose letal de anestésico e a gordura retroperitoneal foi retirada. **Resultados:** Os animais exercitados apresentaram redução do peso corporal quando comparados com seus congêneres sedentários. Similarmente glicemia e a gordura retroperitoneal também foram reduzidas. Com relação ao $VO_{2máx}$ os animais NR exercitados independentemente do protocolo de treinamento não apresentaram ganhos no $VO_{2máx}$. Similarmente ao animais controle. Da mesma forma a carga de trabalho final (CTf.) também ficou comprometida. **Conclusão:** Os protocolos de exercício não foram hábeis em produzir ganhos similares aos de animais controles na captação máxima de oxigênio em animais programados metabolicamente para a obesidade. Uma possível explicação pode ser relacionada com o excesso de peso, e hipotetiza-se que animais NR podem apresentar menores quantidades de proteínas chaves responsáveis pelo transporte de glicose durante o exercício.

Palavras-Chave: programação metabólica; $VO_{2m\acute{a}x.}$; exercício físico moderado.

FABRICIO, Gabriel Sergio. **OVER NUTRITION IN INFANT, IMPAIRED THE VO_{2max} . OF RATS SUBMITTED TO MODERATED PHYSICAL TRAINING PROGRAM.** 2013. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Program of Post – Graduation associated UEM/UEL. STATE UNIVERSITY OF MARINGÁ, Maringá, 2013.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is considered a great public health problem, having generally, as mainly causes food excess together with a low caloric expenditure. Promoting the onset of many diseases such as type 2 Diabetes. Weight excess is a determinant factor in absolute levels of maximal oxygen uptake. (VO_{2max}), and exercise is an important tool for treatment and prevention of obesity. Thus, the present study aimed investigate if the metabolic programming for obesity whereby litter size, could impaired the absolute levels of VO_{2max} of rats submitted different moderated physical training programs lifelong. **Methodology:** Pregnant Wistar rats were allocated separately in individual boxes. After born, offspring were adjusted for 9 pups (Norma Litter – NN). For process small litter size (NR), in third day after born, the offspring were reduced for 3 pups per dam, for induction over nutrition. At 21-days-old offspring were standardized in 3 animals per box and divided this way: NN sedentary (NN SED); NN exercised Negrão (NN NE); NN exercised New protocol (NN NP) and NR sedentary (NR SED); NR exercised Negrão; (NR NE); NR exercised New protocol (NR NP). Only males animals were utilized. Between 21 and 90 days-old the animals were submitted to the respective training protocols in treadmill (moderate intensity). At 30, 45, 60, 75, 90 days-old, all animals including sedentary were submitted a maximal effort test for determination of VO_{2max} . At 90 days-old, after the last effort test, the animals were fasted (12 hours), for realization of intravenous glucose tolerance test (ivGTT). After this, the animals were sacrificed with lethal doses of anesthesia and retroperitoneal fat was removed. **Results:** The exercise protocols were able in reduced body weight when compared with your sedentary congener. Similarly glycemia and retroperitoneal fat were reduced too. With relationship VO_{2max} , the animals NR exercised independently of exercise protocol don't showed gain in VO_{2max} like to normal animals. Like this, the final workload also was impaired. **Conclusion:** The exercise protocols weren't able to produce similar gain the controls animals in the maximal oxygen uptake in metabolic programming animals for obesity. One possible explanation could be relationship with weight excess, and is hypothesized that small litter animals could show low amount of key proteins responsible for transportation of glucose during the exercise.

Keywords: metabolic programming; VO_{2max} ; moderate physical exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	1- Resposta do consumo de oxigênio (VO ₂) ao exercício de carga constante em diferentes intensidades: domínio moderado, pesado e severo, adaptado de Jones e Burnley (2009) [61].	11
Figura 2 -	2 – intensidade do exercício de acordo com a concentração de lactato (BLC), exercícios divididos em leve, moderado e severo adaptado de Beneke et al (2011) [66].	13
Figura 3 -	– Porcentagem de utilização de cada tipo de fibra muscular de acordo com a intensidade do exercício [71].	15
Figura 4 -	- Consumo de lipídeos de acordo com a intensidade do exercício em relação ao VO ₂ máx. e concentrações de lactato [24].	17
Figura 5 -	– Desenho da padronização dos grupos ninhada normal e ninhada reduzida .	19
Figura 6 -	– Desenho dos grupos experimentais de acordo com o protocolo de exercício dos 21 aos 90 dias de vida .	19
Figura 7 -	– Efeito do exercício sobre o peso corporal (PC), dos animais .	26
Figura 8 -	– Efeito do exercício sobre a gordura corporal dos ratos .	27
Figura 9 -	– Efeito do exercício sobre a tolerância a glicose ivGTT .	28
Figura 10 -	– Efeito do exercício sobre os valores absolutos de VO₂máx .	29
Figura 11 -	- Efeito do exercício sobre os valores absolutos de Carga de trabalho final (CTf) .	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	- Protocolo de exercício Negrão et al. [86].	21
Tabela 2 -	– Novo protocolo de treinamento.	23

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DEF	Departamento de Educação Física
CCS	Centro de Ciências da Saúde
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UEL	Universidade Estadual de Londrina
DOHaD	Development origin health and disease
VO₂	Captação de oxigênio
VO_{2máx.}	Captação máxima de oxigênio
O₂	Oxigênio
CO₂	Dióxido de carbono
CTf	Carga de trabalho final
SNC	Sistema nervoso central
SNA	Sistema nervoso autônomo
MSG	Glutamato monossódico
DG	Diabetes gestacional
GH	Hormônio do crescimento
MFEL	Máxima fase estável de lactato
ATP	Adenosina trifosfato
ADP	Adenosina difosfato
AMP	Adenosina monofosfato
Ca⁺⁺	Cálcio
AMPK	Proteína kinase dependente do AMP
GLUT-1	Proteína transportadora de glicose tipo 1
GLUT - 4	Proteína transportadora de glicose tipo 4
NN	Ninhada normal
NR	Ninhada reduzida
NN SED	Ninhada normal sedentária
NN NE	Ninhada normal exercitado Negrão
NN NP	Ninhada normal exercitado Novo Protocolo

NR SED	Ninhada reduzida sedentária
NR NE	Ninhada reduzida exercitado Negrão
NR NP	Ninhada reduzida exercitado Novo Protocolo
PC	Peso Corporal
ivGTT	Teste de tolerância a glicose intra venoso
MC	Massa corporal
g	Gramas
KG	Kilograma
µL	Micro litro
rpm	Rotações por minuto
COBEA	Conselho brasileiro de experimentação animal
p	Nível de significância

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	04
2.1 Objetivo Geral	04
2.2 Objetivos Específicos	04
3 REVISÃO DA LITERATURA (OU TEÓRICA)	05
3.1 Programação metabólica	05
3.2 Exercício físico e o $VO_{2máx}$, (intensidades do treinamento físico)	10
4 MÉTODOS	19
5 RESULTADOS	27
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXOS	44
ANEXO I – Programmed obesity versus physical exercise: can long term and moderate exercise make a difference?	45

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas, a obesidade ganhou papel de destaque por representar um importante problema de saúde pública, para países desenvolvidos e em desenvolvimento [1]. Este papel de destaque está relacionado às comorbidades que o aumento de peso pode causar, por exemplo: Diabetes tipo 2 (DM2), hipertensão, elevada concentração de triglicérides e redução na quantidade de HDL, entre outras classificadas como problemas crônico-degenerativos [2]. De acordo com a Federação Internacional do Diabetes (IDF) a combinação de 3 dos 5 problemas citados acima, constituem a Síndrome Metabólica (SM) [3]. Como característica principal da SM, aponta-se que as doenças relacionadas potencializam o risco de problemas cardiovasculares, que quando agravados podem ocasionar a morte [4]. Os pacientes diagnosticados com SM representam um alto custo para as autoridades da saúde devido os gastos com internações e medicamentos [5].

A relação existente entre o aumento no consumo alimentar e diminuição dos gastos calóricos pode explicar o início da obesidade [6]. Entretanto, o excesso de peso possui causas multifatoriais não existindo uma causa principal [7]. Insultos em fases cruciais ao desenvolvimento neuronal (gestação, lactação, infância e adolescência), também conhecidas como “janelas de programação” podem estar envolvidos no desenvolvimento do peso excessivo. [8-9]. Como forma de insultos sugere-se que alimentação excessiva, desnutrição, DM2, hipertensão, uso excessivo de fármacos, exposição a poluentes e outros, comprometem o desenvolvimento normal da plasticidade neuronal, com a apresentação de consequências futuras [10].

Barker et al. apresentaram que condições adversas na vida intra uterina e durante a infância aumentam a incidência de doenças cardiovasculares e DM2, mostrando que o feto se adapta as condições ambientais. Tal fenômeno ficou conhecido como “hipótese do fenótipo poupador” (*thrifty phenotype hypothesis*) [11]. Seguindo este mesmo raciocínio, Lucas mostrou que a aplicação de insultos nas outras janelas de programação também promove adaptações do organismo devido à alta plasticidade neuronal. Isto leva a persistente modificação do controle metabólico do

33 organismo, refletida em adversidades futuras como a obesidade [12]. Estes estudos e
34 outros são utilizados para embasar o conceito DOHaD (*developmental origin of health*
35 *and disease*) que sugere que insultos precoces colaboram para as condições de saúde
36 na vida adulta [13-14]. Para estudar tais alterações a utilização de modelos animais
37 contribui para o entendimento da fisiopatologia deste fenômeno. Como formas de
38 insultos são utilizadas dietas ricas em gordura, lesões no sistema nervoso central (SNC)
39 no início da vida através do uso de L-glutamato monossódico (MSG), ou excesso de
40 alimentação oriunda de redução do tamanho da ninhada, entre outros [15].

41 O excesso de peso também é fortemente associado a um estilo sedentário de
42 vida, colaborando para um baixo condicionamento aeróbio refletido nos valores
43 absolutos de consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx.}$) [16]. O $VO_{2máx.}$ reflete a forma
44 como o corpo utiliza o oxigênio (O_2) para produção de energia através de vias aeróbias
45 durante o exercício, mostrando a interação existente entre os sistemas pulmonar,
46 cardíaco e muscular [17-18].

47 Os valores de $VO_{2máx.}$ também podem ser reflexo da sensibilidade a insulina no
48 tecido muscular esquelético. A dificuldade de captação de glicose é refletida pela falta
49 de energia durante o exercício, promovendo dificuldade para a realização do mesmo.
50 Sugere-se que existe uma relação de causa e consequência entre o excesso de peso e
51 o $VO_{2máx.}$, porque quanto maior o excesso de peso, menor é a sensibilidade a insulina e
52 maior a dificuldade para realização do exercício [19]. A resistência a insulina, o
53 diabetes e o $VO_{2máx.}$ podem ser fatores hereditários. Mães diabéticas durante a vida
54 toda, e durante a gestação, geram filhos com predisposição a obesidade e ao
55 surgimento do diabetes. Estes também apresentam dificuldade para realização de
56 atividades físicas e menores valores de $VO_{2máx.}$, formando assim um ciclo vicioso [20-
57 21].

58 Como forma de reverter os problemas advindos do acúmulo de gordura corporal
59 o exercício físico, especialmente os moderados (55 a 70% do $VO_{2máx.}$), tem se tornado
60 uma eficiente ferramenta para o combate da obesidade. Reduzindo assim, o peso
61 corporal além de auxiliar no controle da glicemia sanguínea [22]. É conhecido que
62 atividades entre 55 e 70% do $VO_{2máx.}$ promovem maior mobilização dos estoques de

63 gordura para produção de energia, além de contribuir para adaptações periféricas e
64 centrais que colaboram para maiores níveis de $VO_{2máx}$ [23-26].

65 O sedentarismo é considerado por si só como um fator independente para a
66 obesidade e suas consequências. A partir disto o presente trabalho tem como objetivo
67 investigar se a programação metabólica para a para obesidade, induzida por redução
68 de ninhada pode comprometer o VO_{2max} de ratos submetidos a um programa de
69 treinamento físico moderado.

70

71

72

2 OBJETIVOS

73

74

75

76

2.1 - Objetivo geral

77

78

79

80

81

Analisar a influência da programação metabólica para obesidade induzida por ninhada reduzida sobre a captação máxima de oxigênio ($VO_{2m\acute{a}x.}$) em ratos exercitados em protocolos de exercício moderado: estabelecido a partir da mensuração direta do consumo de O_2 ou inferido indiretamente.

82

2.2 - Objetivos específicos

83

- Avaliar o ganho de peso dos animais do desmame até os 90 dias de vida;

84

- Analisar a quantidade de gordura aos 90 dias de vida;

85

- Analisar a curva glicêmica dos animais aos 90 dias de vida;

86

- Avaliar os valores máximos de $VO_{2m\acute{a}x.}$ em diferentes idades;

87

- Avaliar os valores de cargas de trabalho final (CTf) em diferentes idades;

88

89

90

3 REVISÃO DA LITERATURA

91

92

93

94

4 – Programação metabólica

95

96

97

A descoberta de novas doenças no início do século XX colaborou para o desenvolvimento de diversas manobras farmacológicas, ou não, que tinham como objetivo diminuir a mortalidade em recém-nascidos. Avery e Mead mostraram que o uso destas técnicas durante a gestação ou lactação diminuía a mortalidade, mas promovia à má formação de organismos [27]. Como exemplo, estes autores em meados da década de 40, mostraram que crianças nascidas de mães que receberam terapias agressivas (excesso alimentar ou fármacos) apresentavam doença da membrana hialina, que dificulta a respiração [27]. Ainda no século XX pesquisadores ingleses e suecos que também investigavam as causas da mortalidade em crianças, descobriram que as condições fetais durante a gravidez estavam diretamente relacionadas com a sobrevivência de cada geração [28].

108

Mais tarde Ravelli et al. investigaram a fome holandesa, ocorrida na segunda guerra mundial. Neste período muitas mulheres, recém-nascidos, crianças e adolescentes foram submetidos a uma escassez de alimento. Foi descoberto que a composição corporal de cada indivíduo estava relacionada ao período de vida em a pessoa foi exposta a subnutrição. Os mesmos autores mostraram ainda que os períodos da gestação pareciam influenciar fortemente tais modificações, como exemplo a desnutrição no ultimo trimestre da gestação favorecia o baixo peso na vida adulta. No entanto, desnutrição no primeiro semestre promovia obesidade [29].

116

Já na década de 90, Barker et al. mostrou que o peso no momento do nascimento tinha relação direta com o surgimento de doenças cardiovasculares, hipertensão e desenvolvimento do Diabetes tipo 2 [11]. O mesmo autor ainda mostrou que o feto tinha capacidade de se adaptar as condições a qual era exposto através de uma modificação na carga genética, a qual era refletida pelo surgimento de doenças na

117

118

119

120

121 vida adulta, embasando a “hipótese do fenótipo poupador” (*thrifty phenotype*
122 *hypothesis*) [30].

123 A partir dos achados de Barker outros pesquisadores avaliaram o tipo de dieta
124 desenvolvida pela mãe e a relação que esta tinha com o peso do bebê no parto e o
125 desenvolvimento do sistema imune e neuropsicomotor [31-33]. Estes estudos levaram
126 os autores a sugerir o termo “programação” para explicar a relação existente entre
127 estímulos precoces e consequências futuras. Lucas ainda mostrou que
128 estímulos/insultos aplicados em fases cruciais do desenvolvimento neuronal (gestação,
129 lactação, infância e adolescência) podiam produzir alterações persistentes [12].

130 Posteriormente estas fases passaram a ser chamadas de “janelas de
131 programação” [8-9]. Esses insultos (alimentação excessiva, desnutrição, DM2,
132 hipertensão, uso excessivo de fármacos, exposição a poluentes, entre outros) foram
133 relacionados com o surgimento de doenças futuras [10]. Embasando assim, o termo
134 DOHaD (*developmental origin of health and diseases*) [13-14].

135 As janelas de programação são importantes para o desenvolvimento do ser
136 humano, pois nestas observa-se grande plasticidade neural. Insultos recebidos durante
137 estes períodos têm ligação com a modulação da homeostasia do sistema nervoso [34].
138 O sistema nervoso central (SNC), com auxílio do sistema nervoso autônomo (SNA),
139 modula o metabolismo energético e o peso corporal. Uma programação inadequada
140 pode comprometer a correta estocagem e utilização das reservas energéticas,
141 colaborando para o acúmulo de peso e doenças relacionadas com o passar dos anos
142 [35-36].

143

144 Com relação à programação metabólica em humanos, sugere-se que as mães,
145 sejam as responsáveis pelos eventos futuro. Como já mencionado neste capítulo o
146 estilo de vida da mãe é refletido nos filhos [9]. Como exemplo mulheres ativas durante a
147 vida toda e inclusive durante a gestação, tem um curso normal da gravidez e um parto
148 mais tranquilo, gerando filhos com peso normal [37]. Em contraste, mulheres que
149 desenvolvem estilo de vida sedentário apresentam excesso de peso e uma maior
150 probabilidade de resistência periférica a insulina durante a gestação, desenvolvendo um
151 quadro de diabetes gestacional (DG). Esta é caracterizada pelo aumento de glicose na

152 corrente sanguínea da mãe, promovendo aumento de peso fetal no nascimento
153 (macrossomia) [38-39]

154 Fetos macrossômicos, são associados a crianças com obesidade, além de
155 apresentarem maiores dobras cutâneas e maiores circunferência da cintura quando
156 comparados a fetos de mães não diabéticas [40]. Bebês que nascem com peso
157 superior a 4500g apresentam risco elevado de terem traumas no momento do
158 nascimento (fissuras ósseas). Recém-nascidos nesta faixa de peso corporal
159 apresentam alta taxa de mortalidade. [41].

160 Além do período gestacional e lactante, se sugere que a infância e adolescência
161 também apresentem grande plasticidade neural. Estímulos recebidos nesta fase
162 colaboram diretamente para modulação da homeostasia energética [34]. O estilo de
163 vida adotado nestas fases tem reflexo na vida adulta, como exemplo crianças e
164 adolescentes obesos têm maiores chances de se tornarem adultos com excesso de
165 peso [42].

166 O período compreendido entre 18 e 25 anos ou a transição entre a juventude e
167 vida adulta, também é entendido como uma potencial janela de programação, por ainda
168 existir plasticidade neural. Nesta fase a saída de casa em busca de trabalho, faculdade
169 ou para constituição de uma nova família representa grande mudança no estilo de vida,
170 colaborando para redução do nível de atividades física e modificação no padrão
171 alimentar. [43]. Estas alterações são levadas para a vida adulta, onde o metabolismo
172 energético começa a sofrer modificações que refletem a rotina diária de cada um. Por
173 volta dos 30 anos devido uma diminuição da quantidade de massa magra, bem como
174 da secreção de hormônios como a testosterona e o hormônio do crescimento (GH), o
175 metabolismo apresenta uma queda de 2 a 3% anualmente, promovendo acúmulo de
176 peso e doenças relacionadas [44].

177 Como forma de entendimento de consequências futuras que são frutos dos
178 insultos precoces o uso de modelos animais ganha grande destaque. Existem variadas
179 formas de programação, como exemplo o uso de glutamato monossódico (MSG), dieta
180 hipoproteica, super alimentação na infância [15], entre outras.

181 Ratos de 30 dias de idade ou adolescentes que receberam dieta com pouca
182 proteína por 30 dias apresentaram aos 120 dias de idade hiperinsulinemia em jejum,

183 resistência periférica a insulina além de aumento nos estoques de gordura corporal. A
184 falta de proteína promove adaptação do feto, promovendo o surgimento de um fenótipo
185 poupador [45]. Outra forma de insulto provém da aplicação de MSG em animais recém-
186 nascidos. Ratos neonatos que foram submetidos a este tratamento nos 5 primeiros
187 dias de vida, apresentaram aumento do peso corporal e desenvolvimento de doenças
188 relacionadas [8, 46]. A administração de glutamato destrói regiões hipotalâmicas
189 responsáveis pelo controle da ingestão alimentar e metabolismo [47].

190 Como o presente trabalho usa a redução do tamanho da ninhada, vale ressaltar
191 aqui que esta forma de insulto produz obesidade precoce. O excesso de ingestão
192 alimentar na infância colabora para o peso excessivo e doenças relacionadas em todas
193 as fases da vida. Além do desenvolvimento de doenças respiratórias [9].

194 O modelo de ninhada reduzida é induzido através da diminuição da prole. No 3º
195 dia após o nascimento a secreção de oxitocina está aumentada na mãe, tal hormônio
196 colabora para a estimulação da secreção e produção de leite pela glândula mamária
197 [48]. Neste momento o número da ninhada é reduzida para 3 ou 4 filhotes, induzindo-os
198 a um aumento no consumo de leite materno por não haver tanta disputa [49-50].

199 A alimentação excessiva durante a infância é responsável por modificações
200 hipotalâmicas em regiões que controlam o apetite e o balanço energético, causando
201 assim hiperfagia. Este desequilíbrio colabora para o desenvolvimento de problemas
202 cardíacos bem como alterações hormonais e aumento dos triglicerídeos na corrente
203 sanguínea [51-52]. Além de todas estas adversidades apresentadas, o excesso de
204 alimentos precoce também colabora para hiperinsulinemia, resistência periférica a
205 insulina, diabetes, hipertensão, e outros componentes formadores da síndrome
206 metabólica [49, 53-54].

207 Como forma de se reverter à má programação metabólica sugere-se que o
208 exercício seja uma potente ferramenta não farmacológica [55]. Aderir-se a um programa
209 de atividades físicas pode contribuir para uma melhor qualidade de vida independente
210 do estágio de vida em que cada um se encontra. Mães que se exercitam durante a vida
211 toda inclusive na gestação podem influenciar de forma considerável sobre o
212 desenvolvimento de seus filhos [9]. A realização de exercícios nas referidas “janelas de
213 programação” contribui para uma remodelação neural que promove desenvolvimento

214 cognitivo, melhora do aprendizado, regulação dos centros de apetite e saciedade. Além
215 da regulação na estocagem e utilização de energia durante repouso e atividade física
216 [35, 56-57].

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226

227

228

229

230

231

232

233

234

235

236

237

3.1 - Exercício físico e o $VO_{2m\acute{a}x}$, (intensidades do treinamento físico)

238

239

240 A associação entre capacidade aeróbica reduzida e sedentarismo causando
241 obesidade e doenças classificadas como crônica degenerativas, é bem conhecida. Uma
242 melhor capacidade aeróbica ($VO_{2m\acute{a}x}$) é relacionada ao sucesso em esportes de
243 rendimento bem como um fator determinante de uma melhor qualidade de vida [16].
244 Para avaliação do $VO_{2m\acute{a}x}$, normalmente são aplicados teste laboratoriais conhecidos
245 como testes de esforço, sendo realizados em ciclo ergômetros (bicicletas ou esteiras),
246 nos quais são aplicados protocolos com elevação da intensidade e constante análise
247 das trocas respiratórias [58-59].

248

249

250

251

252

253

254

255

O $VO_{2m\acute{a}x}$ pode ser expresso de maneira absoluta em litros por minuto ($L \cdot min^{-1}$)
ou relativo à massa corporal por minuto ($mL \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$). Seus valores podem ser
afetados pelo modo de exercício, ou seja, dependem da massa muscular total envolvida
no movimento. Por este motivo, e respeitando o princípio da especificidade do
treinamento, testes diferentes devem ser realizados de acordo com a modalidade.
Ciclistas têm que pedalar e corredores precisam correr quando realizam seus testes. É
também devido a esta especificidade que os testes de modalidades diferentes não
podem ser comparados [60]

256

257

258

259

260

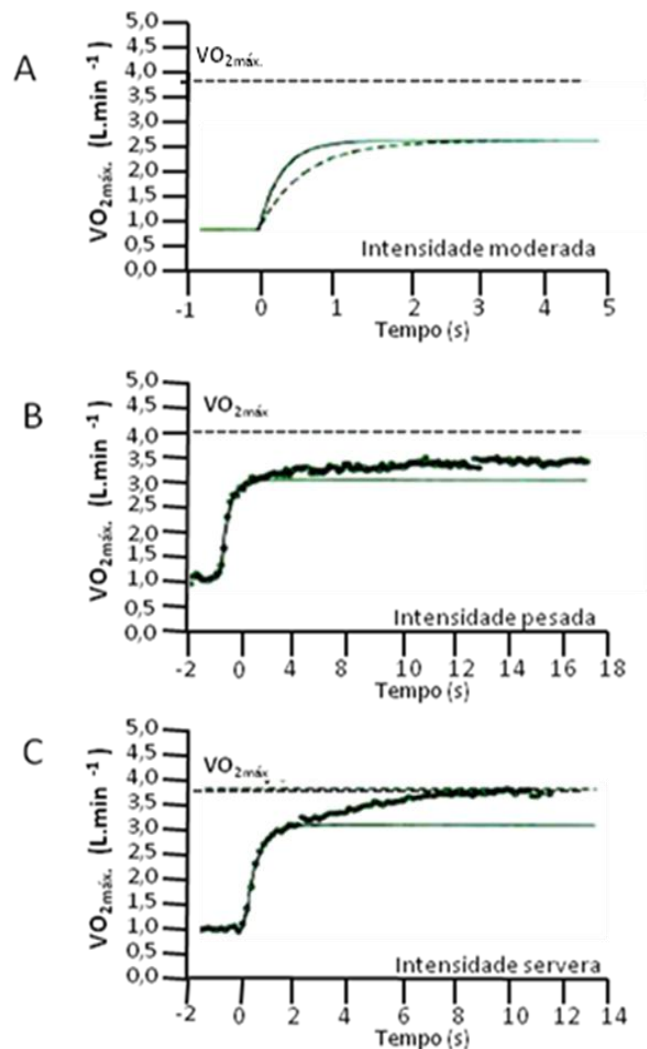
261

262

263

264

$VO_{2m\acute{a}x}$ é definido como a mais alta taxa na qual o O_2 pode ser captado,
transportado e utilizado pelo corpo durante o exercício, refletindo a interação entre os
sistemas pulmonar, cardíaco e muscular. O $VO_{2m\acute{a}x}$ mostra a intensidade máxima na
qual ainda ocorre utilização de O_2 para produção de energia. Acima deste ponto a
utilização de vias anaeróbias de transferência de energia se torna comum, tirando o
caráter aeróbico do exercício. De um modo geral o $VO_{2m\acute{a}x}$ é considerado como um
platô no consumo de oxigênio, onde mesmo aumentando-se a carga não ocorre
captação de mais O_2 (figura – 02) [17-18].



265

266 **Figura 1-** Resposta do consumo de oxigênio (VO₂) ao exercício de carga constante em
 267 diferentes intensidades: domínio moderado, pesado e severo, adaptado de Jones e
 268 Burnley (2009) [61].

269

270 Como visto na figura acima é possível identificar na figura (A) a intensidade
 271 moderada ou o referido platô do consumo de oxigênio. A figura (B) se refere ao
 272 exercício pesado ou na linha de transição entre o exercício de caráter aeróbio para o
 273 anaeróbio. Geralmente exercícios nesta zona têm um predomínio aeróbio, no entanto a
 274 utilização de recursos anaeróbios começa a ser significativa. Isto aumenta ventilação
 275 pulmonar (hiperventilação), que é fruto do acúmulo de subprodutos do exercício
 276 (lactato, CO₂). A figura (C) se refere às atividades acima do platô ou onde não ocorre

277 uma normalização do consumo de O_2 e o exercício passa a ser de caráter anaeróbio,
278 promovendo hiperventilação [61].

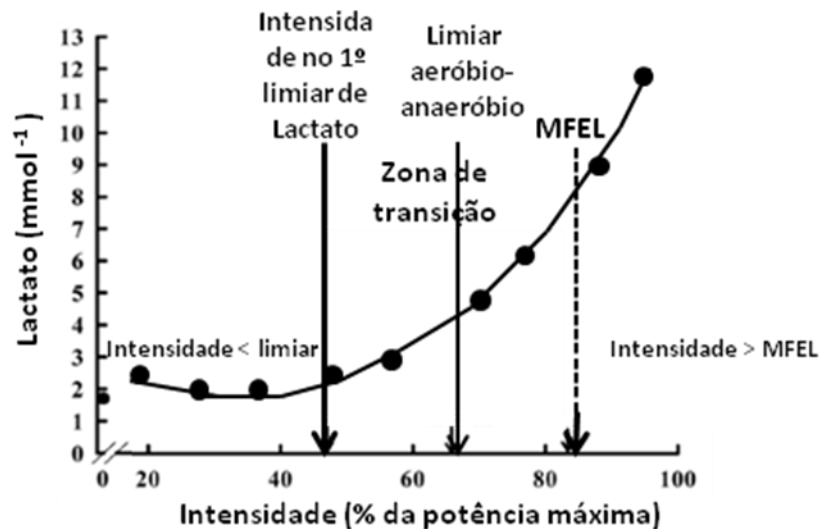
279 Como qualquer variável fisiológica, o $VO_{2máx.}$ tem fatores que podem limitá-lo,
280 não existindo um único fator e sim um conjunto que pode atuar de forma diferente em
281 cada indivíduo. Dentre eles a quantidade de massa magra utilizada no exercício,
282 disponibilidade de O_2 , quantidade de mitocôndrias musculares, velocidade de oxidação
283 mitocondrial e a quantidade de hemoglobinas. Neste quesito, vale ressaltar que devido
284 à maior concentração de testosterona, homens treinados sempre apresentam maiores
285 valores de $VO_{2máx.}$ absoluto, quando comparados as mulheres, também treinadas, pois
286 o hormônio em questão é precursor da formação de hemoglobinas [62]. Além destes,
287 débito cardíaco aumentado e uma maior difusão de O_2 pelas fibras musculares tem
288 ligação direta com as limitações do $VO_{2máx.}$ [62-63]. De Azevedo e colaboradores
289 afirmam ainda que o excesso de peso, resistência periférica a insulina, idade e estado
290 de treinamento também favorecem estas limitações [18].

291 O $VO_{2máx.}$ é considerado como um componente fisiológico do treinamento,
292 podendo ser treinado e melhorado como qualquer outro. Através da realização de
293 exercício físico de forma sistemática e crônica, principalmente de caráter aeróbio as
294 transformações são promovidas e se inter-relacionam em uma espécie de efeito
295 cascata [64]. Entre a sequência de acontecimentos temos: o aumento da bradicardia
296 (diminuição da quantidade de batimentos cardíacos por minuto) tanto em repouso como
297 em exercício, devido uma maior força de contração do coração (hipertrofia do
298 miocárdio). Este mecanismo produz maior débito cardíaco (quantidade de sangue
299 bombeada pelo coração por minuto) refletindo em menores valores de pressão arterial
300 devido um aumento da angiogênese periférica, o que acarreta aumento do fluxo
301 sanguíneo nos músculos. No pulmão o aumento do volume promove maior captação de
302 O_2 do ambiente, que é utilizado pelas mitocôndrias nas células musculares. Estas
303 alterações quando em conjunto colaboram para o desenvolvimento de maiores valores
304 de $VO_{2máx.}$ [17, 63, 65].

305 A respeito da intensidade do exercício, a utilização do $VO_{2máx.}$ como um
306 parâmetro para formulação de treinamentos específicos tem grande importância para
307 treinadores, atletas e até mesmo para indivíduos que realizam o exercício físico como

308 forma de lazer. Pois este é baseado nas intensidades que são determinadas as cargas
309 de treinamento [66].

310 Os exercícios podem ser classificados de acordo com o porcentagem do $VO_{2máx.}$,
311 através dos limiares ventilatórios e da concentração de lactato. A partir destas
312 referências é possível saber que tipo de substrato está sendo mais utilizado em um
313 momento específico do exercício [67]. De acordo com os limiares ventilatórios os
314 exercícios são classificados em leves, moderados ou pesados e severos [68]. A partir
315 das concentrações de lactato os exercícios são definidos como: leves ou abaixo do
316 primeiro limiar de lactato; moderados ou aqueles entre o primeiro limiar e o segundo
317 limiar também conhecido como Máxima Fase Estável de Lactato (MFEL); e os
318 exercícios severos ou aqueles acima do segundo limiar [66](Figura – 03).
319



320

321 **Figura 2** – intensidade do exercício de acordo com a concentração de lactato (BLC),
322 exercícios divididos em leve, moderado e severo adaptado de Beneke et al (2011) [66].
323

324 Exercícios leves ou aqueles abaixo do primeiro limiar representam à faixa de
325 atividades destinadas a regeneração de atletas lesionados ou voltando de cirurgia.
326 Nesta intensidade os exercícios são exclusivamente aeróbios. O espaço compreendido
327 entre o primeiro limiar e a MFEL (zona de transição) é chamado de domínio moderado.
328 Nesta intensidade ocorre normalmente os exercícios voltados ao controle do peso

329 corporal e adaptações pulmonares e cardíacas, culminando para melhorias no VO_{2max} .
330 Já a zona acima da Máxima fase estável de Lactato (MFEL) compreende a faixa dos
331 exercícios severos ou aqueles onde não ocorre uma normalização entre produção e
332 remoção do lactato. Exercícios nesta zona não duram por muito tempo e tem como
333 função a melhora de padrões destinados a explosão muscular, como aumento das
334 reservas de fosfocreatina, glicogênio muscular e enzimas ligadas ao metabolismo
335 anaeróbico, tais adaptações são voltadas aos exercícios em que a força muscular tem
336 grande influência, por exemplo, corridas de curtas distâncias como a de 100 m. [66, 69].

337 Como já foi definida, a atividade física é qualquer atividade que utiliza os
338 músculos e faz com que o corpo gaste mais energia do que quando em repouso [70].
339 Com relação aos músculos e a atividade física é correto afirmar que existem três tipos
340 de fibras musculares tipo IA (exclusivamente aeróbia); tipo IIA (aeróbia e anaeróbia);
341 tipo IIB (exclusivamente anaeróbia). Durante o exercício existe uma ordem hierárquica
342 quanto à utilização das fibras musculares, sendo recrutadas de acordo com o esforço
343 do exercício. Ou seja, quanto maior o esforço (percentual do VO_{2max}) mais fibras serão
344 recrutadas aumentando a força e o caráter anaeróbio do exercício [67] (figura – 03).

345

346

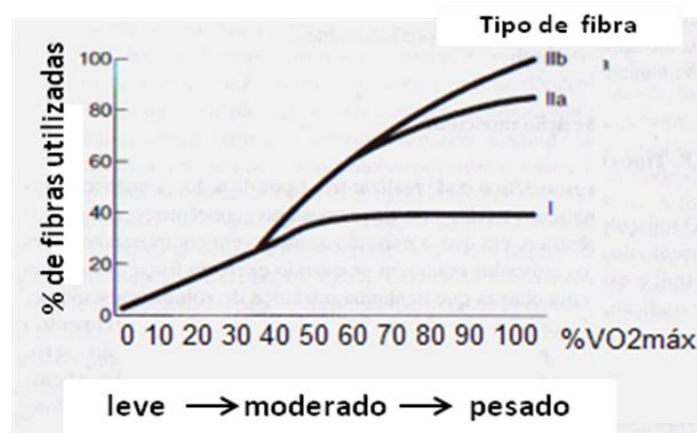
347

348

349

350

351



352

353 **Figura 3** – Porcentagem de utilização de cada tipo de fibra muscular de acordo com a
 354 intensidade do exercício [71].

355

356

357

358

359

360

361

362

363

364

365

366

Como já foi mencionado, a realização de atividades físicas de modo sistemático ou crônico colabora para diversas adaptações fisiológicas como a melhora nos valores de VO₂máx. e economia de movimento. Ou seja, se gasta menos energia por minuto para realização de mesma quantidade de atividade física [72-74]. Juntamente a esta economia do movimento o metabolismo energético sofre uma conformação para que ocorra um maior consumo de gorduras durante o exercício. Devido o aumento do volume mitocondrial juntamente com uma maior concentração de enzimas oxidativas (envolvidas na β – oxidação) e também uma maior concentração de β – adrenorreceptores na superfície do tecido adiposo [25, 75]. Adicionalmente, a realização de atividades físicas, aumenta o gasto energético e auxilia na redução dos estoques de gordura, promovendo também normalização da glicemia e insulinemia.

367

368

369

370

371

372

373

374

A normalização da glicemia durante o exercício físico é dependente do processo de contração muscular. Para que ocorra a contração é necessário energia suficiente [76]. A partir de um potencial de ação a despolarização da membrana celular do músculo ocorre promovendo a liberação de Cálcio (Ca⁺⁺) pelos túbulos T para o interior da célula muscular. Através da interação do Ca⁺⁺ com os filamentos protéicos de troponina ocorre uma conformação dos filamentos protéicos de tropomiosina que expõe os sítios ativos dos filamentos miosina, permitindo a interação com os filamentos de actina. Neste instante ocorre o deslizamento da miosina sobre a actina promovendo à

375 contração [64]. Para que este processo aconteça é necessário energia através da
376 quebra de ATP (adenosina trifosfato). Dependendo da duração do exercício a quebra
377 constante de ATP promove um aumento da razão AMP/ADP, e ligeira queda na
378 concentração de ATP. Nesta situação a enzima AMPK que funciona como um sensor
379 do status energético da célula é acionada em virtude de um aumento na razão
380 AMP/ADP estimulando a produção de energia tanto em humanos como em roedores
381 [77]. A captação de glicose pelo músculo durante a atividade física ocorre através de
382 um processo independente da insulina por meio da translocação do GLUT-4 (proteína
383 transportadora de glicose) na membrana do músculo esquelético, promovendo entrada
384 de glicose para a célula muscular e assim, a normalização da glicemia [78].

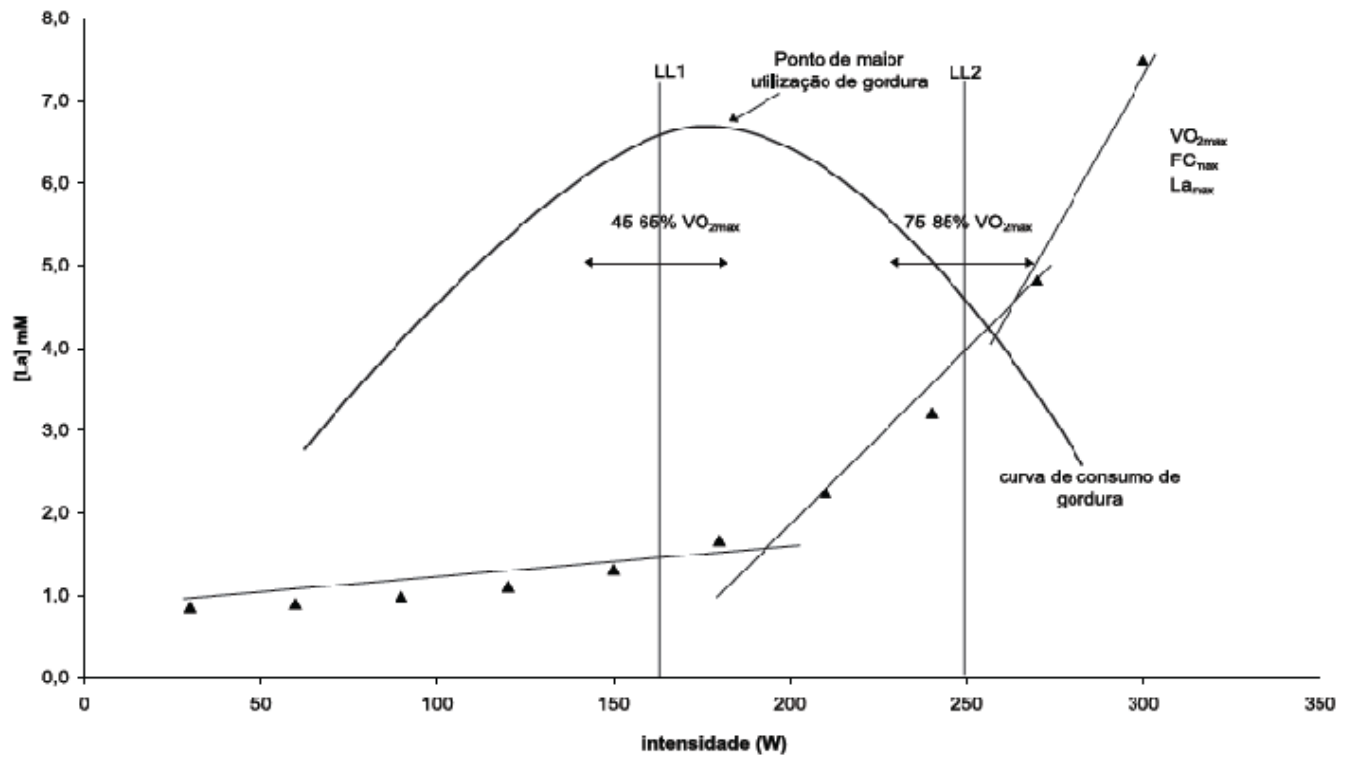
385 Por este motivo, o exercício é considerado como uma potente ferramenta não
386 farmacológica para tratamento da obesidade e principalmente do DM2 [55]. Sugere-se
387 que o exercício físico restaure a quantidade de GLUT de indivíduos diabéticos, o que
388 favorece um maior controle da glicemia [79]. Adotar um estilo de vida ativo favorece
389 uma melhor qualidade de vida.

390

391 .

392

393



394
 395
 396
 397
 398

Figura 4 - Consumo de lipídeos de acordo com a intensidade do exercício em relação ao $VO_{2\text{máx}}$ e concentrações de lactato [24].

399

400

4 MÉTODOS

401

402

4.1. Animais e modelo experimental

404

405

406

407

408

409

410

411

412

Para este estudo, foram utilizados ratos Wistar, transferidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá para o Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção, mantidos a temperatura média de $23^{\circ} \pm 2^{\circ}$ 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 duas fêmeas para cada macho. Ao constatar a prenhes, as fêmeas foram separadas dos machos e acondicionadas em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial Nuvitan® e água *ad libitum* durante todo o período gestacional e da lactação.

413

414

415

416

417

418

419

420

Ao nascimento dos filhotes, foram formadas ninhadas de 9 filhotes machos por lactante, permanecendo até os 21 dias de vida, caracterizando os grupos ninhada normal (NN). Os grupos de ninhada reduzida (NR) foram estabelecidos da seguinte forma: ao 3º dia de vida, as ninhadas NN com 9 filhotes foram reduzidas a apenas 3 filhotes por lactante para indução da hiperalimentação e permaneceram assim até o final da lactação [49]. Aos 21 dias de idade os filhotes (machos) foram separados das lactantes e alocados em gaiolas coletivas, sendo 3 animais por gaiola para os grupos NR e 3 animais por gaiola para os grupos NN.

421

422

423

424

425

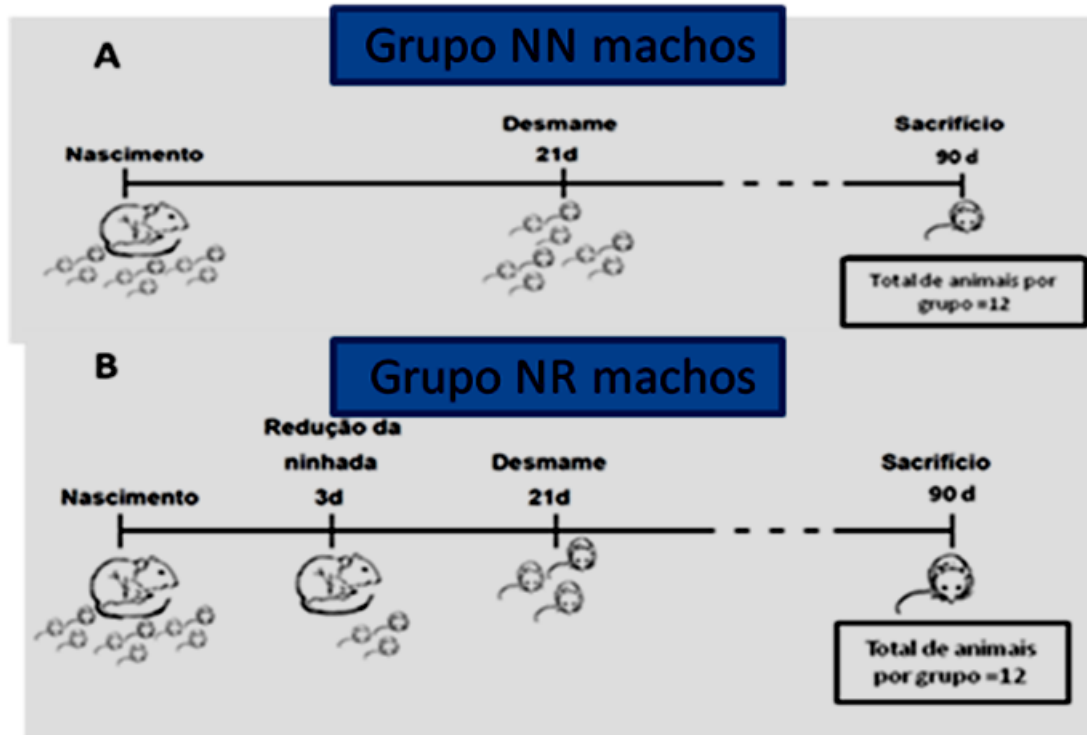
426

427

428

429

Após o desmame os animais foram divididos em 6 grupos distintos Ninhada normal sedentário (NN SED); Ninhada normal exercitado Negrão (NN NE); Ninhada normal exercitado novo protocolo (NN NP); Ninhada reduzida sedentária (NR SED); Ninhada reduzida exercitada negrão (NR NE); Ninhada reduzida exercitada novo protocolo (NR NP). Todos receberam ração comercial Nuvitan® contendo 23% de proteína e água *ad libitum* dos 21 aos 90 dias de idade, nas figuras 05 e 06 estão respectivamente o esquema de formação dos grupos e a divisão de acordo com os protocolos de exercício.

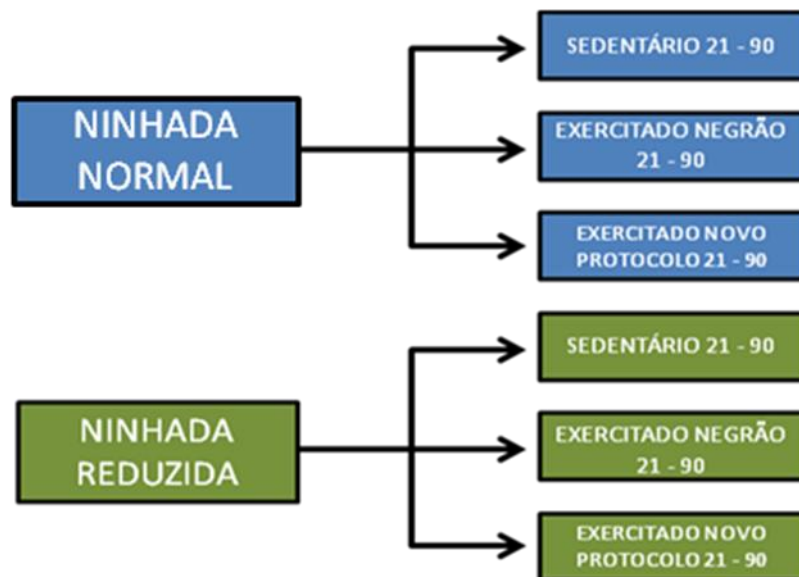


430

431

432

Figura 5 – Desenho da padronização dos grupos ninhada normal e ninhada reduzida.



433

434

435

436

437

438

Figura 6 – Desenho dos grupos experimentais de acordo com o protocolo de exercício dos 21 aos 90 dias de vida.

439 4.2 - Teste de esforço

440

441 Aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias de vidas todos os animais de ambos os grupos
442 realizaram um teste de esforço para determinação do $VO_{2m\acute{a}x.}$ com auxílio de um
443 analisador de gases Havard Aparatus® e esteira individual própria para roedores
444 (Panlab®). O teste consistiu em um aquecimento de 5 minutos na intensidade de 10
445 cm/s, com 0° de inclinação com aumento de 5 cm/s, aproximadamente 3 m/min, a cada
446 3 minutos até a exaustão do animal [80]. No final da baia de corrida uma grade de aço
447 inoxidável emitia estímulos elétricos (0,25 mA) para manter o animal em movimento,
448 como já explicado previamente [81].

449 Foi considerado como parâmetro de exaustão, o fato do animal não conseguir
450 manter ritmo na corrida. Neste caso o animal corria somente com as patas da frente
451 subindo as patas traseiras na grade de choque (não respondendo mais ao estímulo
452 elétrico da esteira) ou o mesmo subia sobre a grade de choque e se recusava a voltar à
453 corrida [82-83]. O $VO_{2m\acute{a}x.}$ foi considerado como o valor alcançado quando mesmo
454 diante de um aumento da carga não ocorresse um aumento no consumo de O_2 de $\pm 5\%$
455 [52]. Já a carga de trabalho final (CTf) foi considerada como a menor carga de trabalho
456 onde ocorreu o platô no consumo de O_2 [84-85].

457

458 4.3 - Protocolo de Treinamento

459 Foram utilizados dois protocolos de treinamento, o primeiro foi proposto por
460 Negrão et al. (1992) [86], sendo composto por duas semanas de adaptação com
461 velocidade inicial de 16cm/seg. com duração inicial de 10 minutos evoluindo para 20
462 min. de duração na velocidade de 19cm/seg. Após o período de adaptação, deu-se
463 início as sessões de treinamento compostas por 3 sessões semanais, com velocidade
464 inicial de 19 cm/seg. com duração de 20 min. evoluindo para 32 cm/seg. com duração
465 de 60 min.. A partir da 5ª sessão um aquecimento de 5 min. a 16 cm/seg. e ao final da
466 sessão, recuperação de 5 min. 16 cm/seg. foram adotados (Tabela 01).

467 **Tabela 1** - Protocolo de exercício Negrão et al. [86].

SESSÃO	VELOCIDADE	TEMPO/MIN.
1º SESSÃO (ADAPTAÇÃO)	10 m/min	10
2º SESSÃO (ADAPTAÇÃO)	10 m/min	12
3º SESSÃO (ADAPTAÇÃO)	10 m/min	15
4º SESSÃO (ADAPTAÇÃO)	12 m/min	15
5º SESSÃO (ADAPTAÇÃO) [30 dias de vida]	12 m/min	17
6º SESSÃO (ADAPTAÇÃO)	12 m/min	20
7º SESSÃO	12 m/min	20
8º SESSÃO	13 m/min	22
9º SESSÃO	13 m/min	25
10º SESSÃO	13 m/min	25
11º SESSÃO [45 dias de vida]	14 m/min	27
12º SESSÃO	14 m/min	30
13º SESSÃO	14 m/min	30
14º SESSÃO	15 m/min	32
15º SESSÃO	15 m/min	35
16º SESSÃO	15 m/min	35
17º SESSÃO	16 m/min	37
18º SESSÃO [60 dias de vida]	16 m/min	40
19º SESSÃO	16 m/min	40
20º SESSÃO	17 m/min	42
21º SESSÃO	17 m/min	45
22º SESSÃO	17 m/min	45
23º SESSÃO	18 m/min	47
24º SESSÃO [75 dias de vida]	18 m/min	50
25º SESSÃO	18 m/min	50
26º SESSÃO	19 m/min	52
27º SESSÃO	19 m/min	55
28º SESSÃO	19 m/min	60
29º SESSÃO	20 m/min	60
30º SESSÃO [90 dias de vida]	20 m/min	60

468 O 2º protocolo foi elaborado a partir da CTf mediante a realização de um
469 equação matemática foram determinadas as intensidades de treinamento. Tais
470 intensidades respeitaram a função quadrática de utilização de gordura como substrato
471 energético para produção de energia de forma aeróbia de acordo com estudos prévios
472 esta zona de treinamento ocorre entre os 55 e 75% do $VO_{2máx.}$ [23-24].

473 O protocolo foi composto por uma semana de adaptação com 7 sessões. As
474 sessões tiveram duração de 10, 12, 14, 16, 18, 20 e 20 minutos com intensidade
475 iniciada em 16 cm/seg e a cada duas sessões um incremento de 2 cm/seg. era
476 adicionado chegando até 22 cm/seg. No 29º dia foi respeitado um período de 24 horas
477 sem nenhuma atividade. No 30º dia o teste de esforço foi realizado. No 32º dia se
478 iniciou o treinamento, após um dia de repouso. Este mesmo processo foi respeitado em
479 todas as outras datas de testes como mostra a tabela 02. Todos os grupos do estudo
480 foram submetidos aos mesmos procedimentos, respeitando as informações da literatura
481 quanto ao período de descanso antes e após o teste [64].

482 As sessões de treinamento tiveram duração de 40 minutos com intensidades
483 entre 55 a 65% do $VO_{2máx.}$, 3 vezes na semana durante 2 semanas. Todos os protocolos
484 de treinamento foram realizados em esteira própria para roedores (Panlab®).

485 **Tabela 1** – Novo protocolo de treinamento.

	IDADE	SESSÕES	TEMPO	VELOCID.
ADAPTAÇÃO	21	1°	10 min	16cm/seg
	22	2°	12 min	16cm/seg
	23	3°	14 min	18cm/seg
	24	4°	16 min	18cm/seg
	25	5°	18 min	20cm/seg
	26	6°	20 min	20cm/seg
	27	7°	20 min	22cm/seg
TESTE	30 DIAS			TEMPO
TREINO	32	1°	55%	40 min
	34	2°	58%	40 min
	36	3°	60%	40 min
	39	4°	60%	40 min
	41	5°	63%	40 min
	43	6°	65%	40 min.
TESTE	45 DIAS			
	47	1°	55%	40 min
	49	2°	58%	40 min
	51	3°	60%	40 min
	54	4°	60%	40 min
	56	5°	63%	40 min
	58	6°	65%	40 min
TESTE	60 DIAS			
	62	1°	55%	40 min
	64	2°	58%	40 min
	66	3°	60%	40 min
	69	4°	60%	40 min
	71	5°	63%	40 min
	73	6°	65%	40 min
TESTE	75 DIAS			
	77	1°	55%	40 min
	79	2°	58%	40 min
	81	3°	60%	40 min
	84	4°	60%	40 min
	86	5°	63%	40 min
	88	6°	65%	40 min
TESTE	90 DIAS			

486

487

488

489

490

491

492

493

4.4 – Avaliação da obesidade

494

4.5 - Teste de intolerância a glicose (ivGTT)

495

496
497
498 Aos 90 dias de idade, os animais foram pesados e anestesiados com a mistura
499 [(Quetamina-Xilazina, na dose 3 mg + 0,6 mg/100 g de peso corporal (PC),
500 respectivamente)]. Em seguida foram submetidos à cirurgia para o implante de uma
501 cânula de silicone na veia jugular externa direita. Após a cirurgia os animais
502 encontravam-se acomodados no biotério setorial permanecendo em gaiolas individuais.

503 Passadas 24 h depois da realização do procedimento cirúrgico, com jejum
504 noturno de 12 h (20h00min às 8h00min) os animais, sem efeito de anestésico, eram
505 submetidos ao ivGTT, para retirada da primeira amostra de sangue (300-350 µL),
506 diretamente da veia jugular por meio da cânula (tempo “0”). Em seguida foi injetado
507 uma solução de glicose na dose de 0,5 g/kg do peso corporal. Amostras de sangue
508 (300-350 µL) foram coletadas, nos tempos 5, 15, 30 e 45 minutos após a administração
509 da solução de glicose. Logo após o sangue foi centrifugado (3000 rpm por 5 minutos) e
510 coletado o plasma sobrenadante.

511 Para dosagem de glicose utilizou-se o método da glicose oxidase [87] por meio
512 de espectrofotometria (Analisador bioquímico semiautomático, BIO 200FL, Bio Plus[®],
513 São Paulo/SP, Brasil), utilizando kit comercial (Gold Analisa[®], Belo Horizonte/MG,
514 Brasil).

515

4.6. Quantificação dos estoques de gordura

516

517
518 Foram aferidos, o peso corporal (g) e a gordura retroperitoneal, a qual foi extraída
519 e pesada para o fornecimento da estimativa do acúmulo de gordura tecidual do animal.

520

4.7 - Análise estatística

521

522 Os resultados obtidos foram comparados através da Análise de Variância
523 (ANOVA TWO WAY), considerando os fatores programação (2 níveis) e atividade física

524 (3 níveis) estipulando-se $p < 0,05\%$ o nível de significância. E pós-teste de *Tukey*:
525 *compare all pairs of columns*, para comparação entre os grupos, com auxílio do
526 programa estatístico *Graph Pad Prisma*.

527

528 Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas do Colégio
529 Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). As amostras foram pesadas em
530 balança de precisão modelo BD-600 (*Instrutherm*®, Brasil).

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

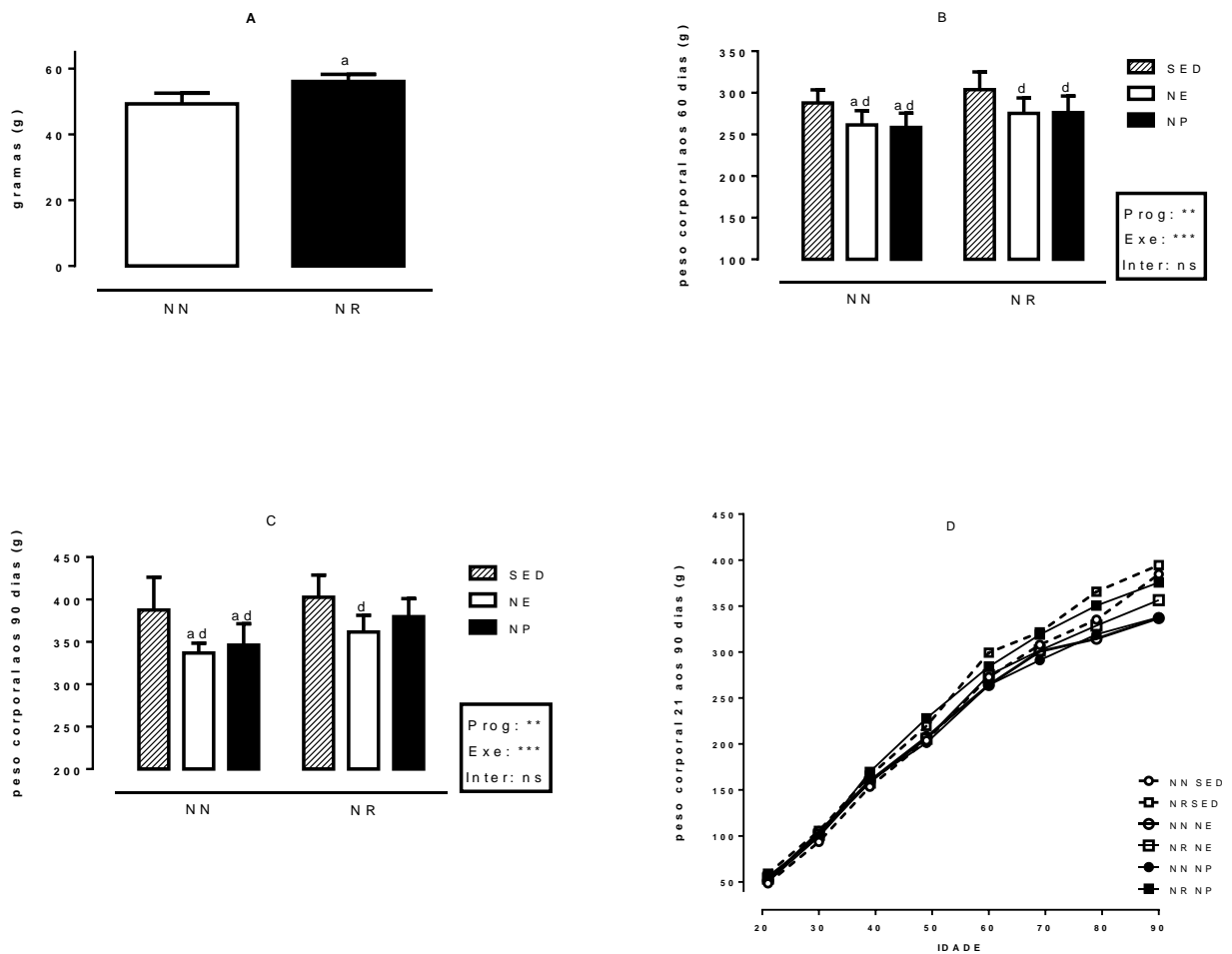
556

5 RESULTADOS

557

558

559

560 **Figura 7** – Efeito do exercício sobre o peso corporal (PC), dos animais.

561

562

563 Prog: Fator programação; Exe: Fator exercício; Inter: Fator interação entre exercício e programação;
 564 NE: Negrão; NP: Novo protocolo; SED: Sedentário; a: diferença significativa em relação a NN SED; b:
 565 diferença significativa em relação a NN NE; c: diferença significativa em relação a NN NP; d: diferença
 566 significativa em relação a NR SED; e: diferença significativa em relação a NR NE; f: diferença significativa
 567 em relação a NR NP.

568

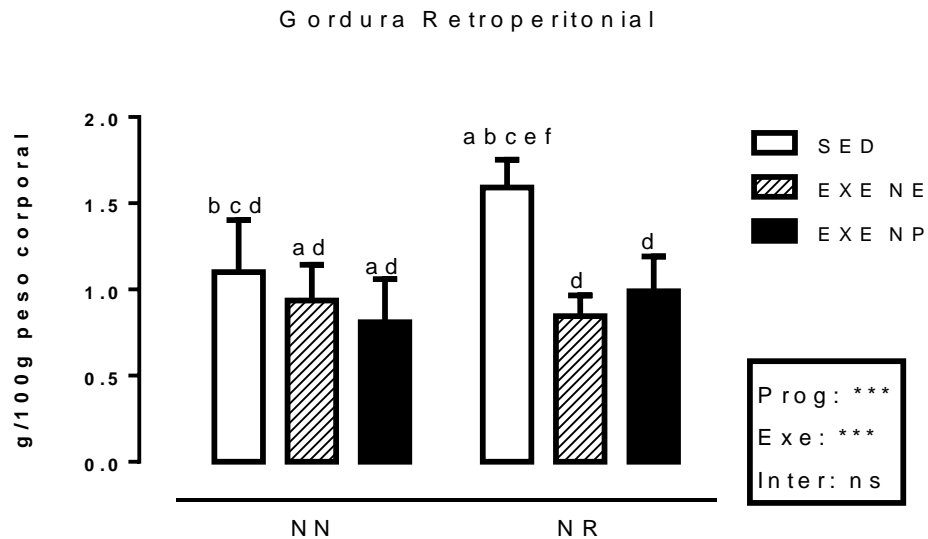
569 A figura 7 mostra que o fator programação metabólica produziu um aumento
 570 significativo no PC dos animais aos 21 dias de vida (figura A) ($p < 0,01$) em relação aos
 571 animais de ninhada normal. Aos 60 dias de vida (figura B) já sobre influência dos
 572 diferentes protocolos de exercício, os animais apresentaram uma redução do PC ($p <$

573 0,001). No entanto não houve interação entre os fatores programação e exercício. Aos
 574 90 dias de vida (figura C) novamente diferenças os animais apresentaram uma redução
 575 do PC ($p < 0,001$). Não ocorrendo interação entre os fatores programação e exercício.

576

577 **Figura 8** – Efeito do exercício sobre a gordura corporal dos ratos.

578



579

580

581

582

583

584

585

Prog: Fator programação; Exe: Fator exercício; Inter: Fator interação entre exercício e programação;
 NE: Negrão; NP: Novo protocolo; SED: Sedentário; a: diferença significativa em relação a NN SED; b:
 diferença significativa em relação a NN NE; c: diferença significativa em relação a NN NP; d: diferença
 significativa em relação a NR SED; e: diferença significativa em relação a NR NE; f: diferença significativa
 em relação a NR NP.

586

587

588

589

Os animais expostos a programação metabólica apresentaram um aumento dos
 estoques de gordura retroperitoneal ($p < 0,001$). Independentemente do protocolo de
 exercício os animais exercitados apresentaram redução nos estoques de gordura ($p <$
 0,01).

590

591

592

593

594

595

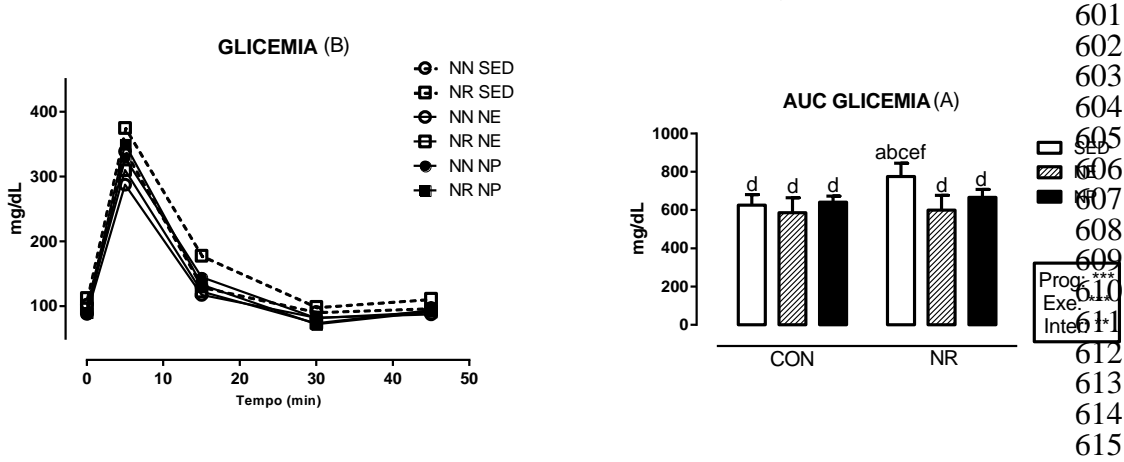
596

597

598

599

600 **Figura 9** – Efeito do exercício sobre a tolerância a glicose ivGTT.



616

617 Prog: Fator programação; Exe: Fator exercício; Inter: Fator interação entre exercício e programação;
 618 NE: Negrão; NP: Novo protocolo; SED: Sedentário; a: diferença significativa em relação a NN SED; b:
 619 diferença significativa em relação a NN NE; c: diferença significativa em relação a NN NP; d: diferença
 620 significativa em relação a NR SED; e: diferença significativa em relação a NR NE; f: diferença significativa
 621 em relação a NR NP.

622

623

624 O fator programação ($p < 0,001$) produziu um aumento da glicemia (figura B) nos
 625 animais NR. No entanto, o fator exercício foi hábil ($p < 0,001$) em reduzir a glicemia dos
 626 animais. Contudo, o efeito do exercício é evidente somente nos animais NR produzindo
 627 uma interação ($p < 0,01$) entre os fatores programação e exercício.

628

629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

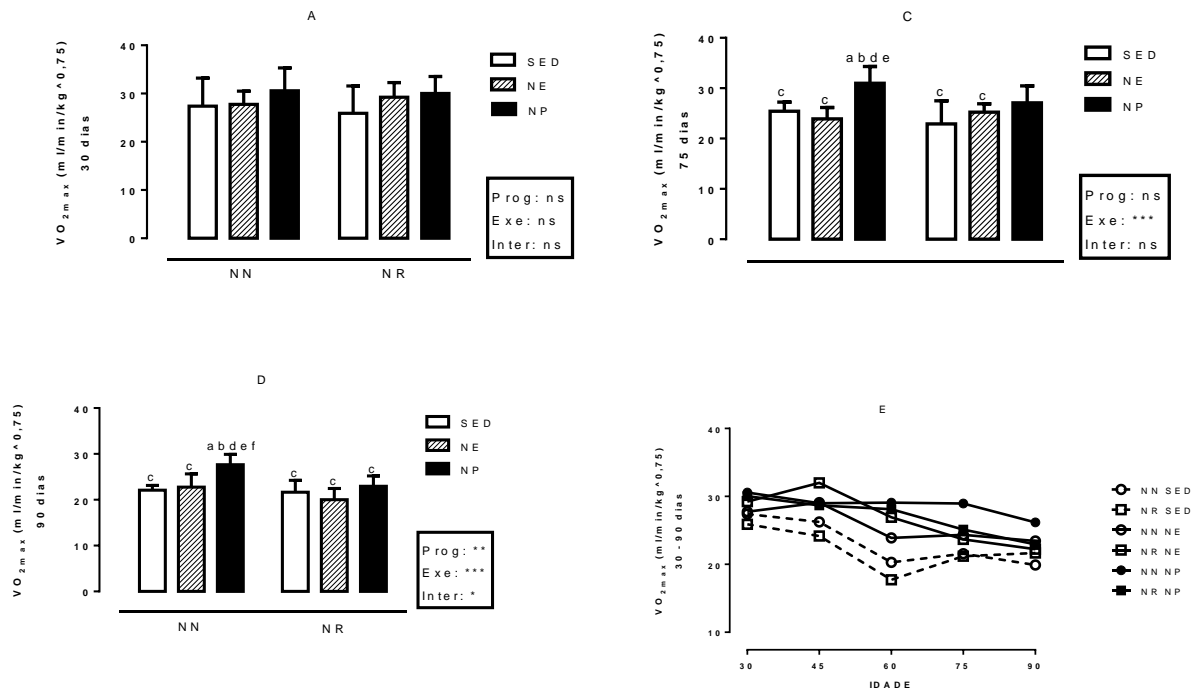
644

645

646

647

648 **Figura 10** – Efeito do exercício sobre os valores absolutos de $VO_{2m\acute{a}x}$.
 649



650

651

652 Prog: Fator programação; Exe: Fator exercício; Inter: Fator interação entre exercício e programação;
 653 NE: Negrão; NP: Novo protocolo; SED: Sedentário; a: diferença significativa em relação a NN SED; b:
 654 diferença significativa em relação a NN NE; c: diferença significativa em relação a NN NP; d: diferença
 655 significativa em relação a NR SED; e: diferença significativa em relação a NR NE; f: diferença significativa
 656 em relação a NR NP.

657

658

659

660 Como esperado aos 30 dias de vida (figura A), não existiram diferenças
 661 significativas entre os valores absolutos de $VO_{2m\acute{a}x}$ dos animais dos diferentes grupos.
 662 Aos 75 dias de vida (figura C) o fator exercício melhorou o $VO_{2m\acute{a}x}$ nos animais
 663 exercitados quando comparados aos congêneres sedentários ($p < 0,001$). Aos 90 dias
 664 de vida (figura D) os animais programados metabolicamente apresentam menores
 665 valores absolutos $VO_{2m\acute{a}x}$. ($p < 0,01$). O fator exercício ($p < 0,001$) contribuiu para um
 666 aumento nos valores absolutos de $VO_{2m\acute{a}x}$. Uma interação ($p < 0,05$) foi produzida entre
 667 o fator exercício e programação, pois diferenças significativas entre os grupos NR não
 668 foram encontradas.

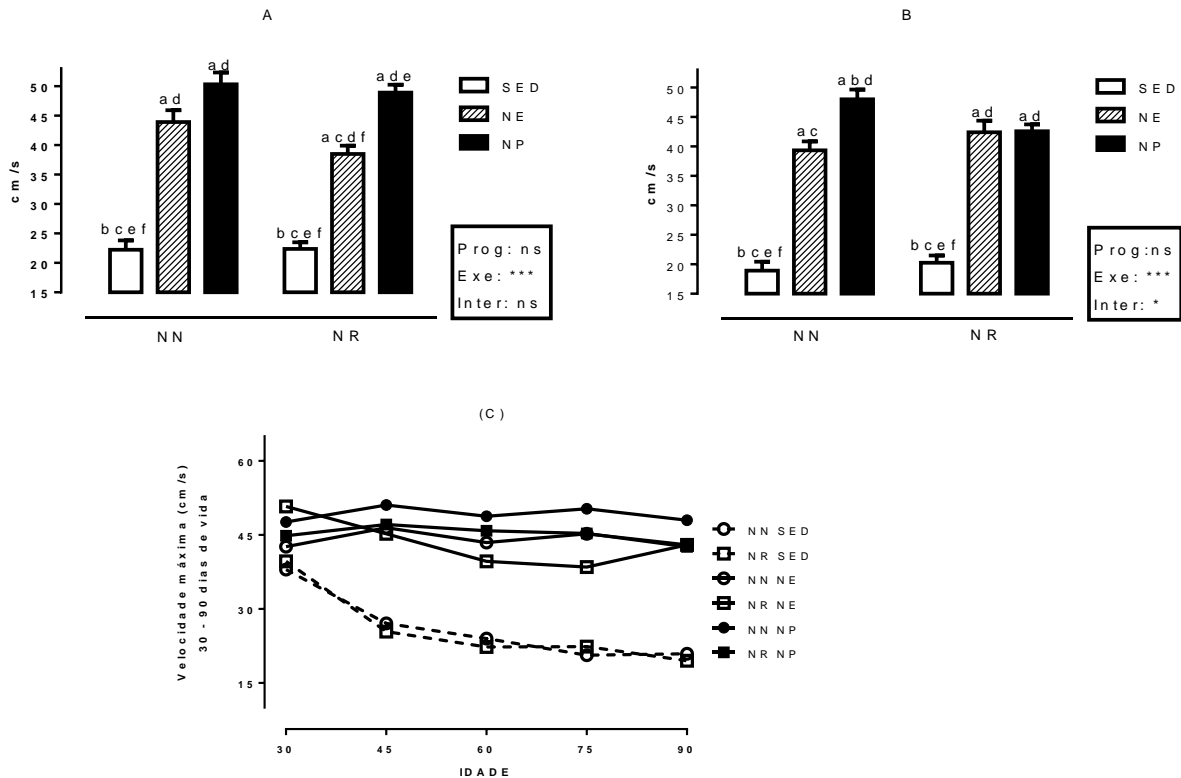
668

669

670

671
672
673
674

Figura 11 - Efeito do exercício sobre os valores absolutos de Carga de trabalho final (CTf).



675

676

677 Prog: Fator programação; Exe: Fator exercício; Inter: Fator interação entre exercício e programação;
678 NE: Negrão; NP: Novo protocolo; SED: Sedentário; a: diferença significativa em relação a NN SED; b:
679 diferença significativa em relação a NN NE; c: diferença significativa em relação a NN NP; d: diferença
680 significativa em relação a NR SED; e: diferença significativa em relação a NR NE; f: diferença significativa
681 em relação a NR NP.

682

683 Aos 75 dias de vida (figura A) o fator exercício ($p < 0,001$) e programação ($p <$
684 $0,01$) contribuíram para diferenças significativas entre animais exercitados e seus
685 congêneres sedentários, porém não ocorreram interações significativas. Aos 90 dias de
686 vida (figura B) o fator exercício ($p < 0,001$) contribuiu para um aumento nos valores
687 absolutos de CTf produzindo diferenças significativas entre animais exercitados e seus
688 congêneres sedentários novamente. Contudo, uma interação foi produzida ($p < 0,05$)
689 pois o aumento não foi igual entre os grupos exercitados.

690

691

692

6 DISCUSSÃO

693

694

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

Insultos ou diferentes estímulos em determinadas fases da vida conhecidas como janelas de programação contribuem para modificações no metabolismo energético. Estas modificações podem acarretar obesidade em fases iniciais da vida como infância e adolescência, perdurando na vida adulta [45, 49, 54, 72]. Como exemplo disto no presente trabalho à figura 7 (A) mostra que a programação metabólica por redução de ninhada contribuiu para um aumento de 13% no peso dos animais em relação aos animais de ninhada normal aos 21 dias de vida. Dados semelhantes foram obtidos em trabalhos prévios de Plagemann et al.; Rodrigues et al., onde os animais NR foram mais pesados no momento do desmame [88-89].

705

706

707

708

709

Os motivos pelos quais os animais NR são mais pesados ainda não são completamente entendidos. Uma possível explicação está relacionada à modificação que o excesso de alimentação precoce produz no hipotálamo (responsável pelo controle da ingestão alimentar e metabolismo energético) e na regulação neuro-hormonal em fases como infância e adolescência [89-90].

710

711

712

713

714

715

716

717

718

719

720

Em relação ao efeito do exercício físico, a literatura o tem apontado como uma potente ferramenta não farmacológica para o tratamento da obesidade. O exercício físico leva a uma redução dos estoques corporais de gordura, além de auxiliar no controle de diversos parâmetros sanguíneo como glicemia, pressão arterial entre outros [2, 9, 91]. Isto se deve a um aumento no metabolismo energético durante a atividade e também no repouso [92]. Como resultado disto, animais com 60 dias de vida (final da adolescência) pré-exercitados por um período de 30 dias (agudo), apresentaram redução de 10% no PC quando comparados aos congêneres sedentários. Estas diferenças permaneceram até os noventa dias de vida, provavelmente devido à continuação do programa de exercícios. Outro ponto importante mostrado neste trabalho se refere aos animais NR SED que se mostraram mais pesados durante a vida

721 toda. Confirmando a hipótese da super alimentação no início da vida e o
722 desenvolvimento do excesso de peso na vida adulta [49-50].

723 Sabe-se que os efeitos do exercício são dependentes da duração, frequência e
724 intensidade [93]. O protocolo proposto por Negrão e colaboradores, bem como o
725 desenvolvido por nosso laboratório respeitou desde o principio a frequência e duração
726 do treinamento físico, contendo três sessões semanais de treinamento com, no mínimo,
727 120 minutos de treino por semana. Esta quantia é suficiente para produção dos efeitos
728 benéficos do exercício como a redução dos estoques de gordura corporal [72].

729 O protocolo desenvolvido por nosso laboratório teve desde a primeira sessão de
730 treinamento duração fixa de 40 minutos com cargas de trabalho entre 55 e 65% do
731 $VO_{2máx}$ (intensidade moderada). Nesta intensidade o exercício físico com mais de 30
732 minutos promove uma maior utilização dos estoques de gordura, em virtude de uma
733 menor concentração na corrente sanguínea de lactato, um potente inibidor de lipólise. É
734 também devido a esta relação entre lipólise e concentração de lactato, que exercícios
735 com intensidades acima de 85% do $VO_{2máx}$. (intensidade alta ou severa) produzem
736 menor utilização dos estoques de gordura, porém degradam outras fontes energéticas
737 como os estoques de glicogênio, e o tecido muscular o que contribui para redução do
738 PC [24].

739 Com relação ao protocolo proposto por Negrão e colaboradores, sugerimos que
740 os efeitos promovidos no PC, diferiram dos efeitos promovidos pelo protocolo NP
741 devido um aumento no tempo das sessões de treinamento e da intensidade no a partir
742 da 12ª sessão de treinamento (tabela 1). No entanto, os animais NR NP mesmo não
743 apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação aos animais NR
744 SED foram 6% mais leves.

745 Do mesmo modo a gordura também apresentou redução em seus estoques
746 como resposta do programa de exercício, independentemente do protocolo aos quais
747 os animais foram submetidos. Os dados apresentados aqui foram próximos aos de
748 Dantas et al;, onde ratos submetidos ao processo de NR e exercitados cronicamente
749 (por mais de 8 semanas), apresentaram redução dos estoques de gordura corporal [94].
750 Similarmente, o comportamento da glicemia também foi alterado em virtude do
751 exercício físico, os animais exercitados apresentaram valores reduzidos de glicemia

752 basal e durante todo o período da curva do teste de ivGTT quando comparados aos
753 animais sedentários, figura 9 (B). Estes dados confirmam as informações de Scoparin et
754 al. e Miranda et al. que mostraram que camundongos submetidos ao processo de
755 obesidade por meio de MSG, e que realizaram treinamento crônico de natação em
756 intensidade e frequência moderadas apresentaram redução da glicemia em relação a
757 animais programados não exercitados [45, 72].

758 Segundo Coyle, durante a realização de qualquer tipo de atividade física o corpo
759 tem a necessidade de manter a glicemia sanguínea para uma produção de energia
760 suficiente para a contração muscular, esta manutenção da glicemia ocorre devido à
761 degradação de fontes energéticas dentre elas o glicogênio muscular [95]. Sessões de
762 treinamento maiores que 60 minutos (exercícios prolongados) com pelo menos 75% do
763 $VO_{2máx.}$ (exercício intenso), contribuem para uma depleção de aproximadamente 80%
764 do glicogênio muscular. Neste tipo de atividade o glicogênio muscular passa a ser a
765 única fonte de energia, tendo velocidade de depleção de acordo com a carga de
766 trabalho [96]. Esta diminuição dos níveis de glicogênio é refletida nas concentrações de
767 glicose sanguínea durante e após o exercício, tendo como resultado, redução da
768 glicemia até 36 horas após a sessão de exercício, devido o aumento na sensibilidade a
769 insulina nos músculos envolvidos [76, 97].

770 Os animais que seguiram o protocolo do Negrão et al. foram submetidos a um
771 exercício de maior intensidade que o novo protocolo (Figura 11). Refletindo assim, uma
772 glicemia 11% menor quando comparados com os animais NR NP. Mesmo esta
773 diferença não sendo significativa, ela pode ser consequência de uma atividade
774 extenuante realizada pelos animais NR NE. Como visto na figura 11 (A), os animais NR
775 e NN exercitados com o protocolo de Negrão et al. aos 75 de vida obtiveram média de
776 CTf de 39 e 50 cm/s respectivamente. Tal idade corresponde a 24ª sessão de
777 treinamento, onde os animais NN NE e NR NE tiveram períodos de treino com duração
778 de 50 min/29 cm/s o que corresponde a 58 e 75% do $VO_{2máx.}$ para animais NN e NR
779 respectivamente. Aos 90 dias de vida na 30ª sessão o treinamento evoluiu para
780 períodos de 60 min/32cm/s correspondendo a 64 e 83% do $VO_{2máx.}$ para animais NN e
781 NR respectivamente, correspondendo a uma situação de sobrecarga para os animais
782 NR NE.

783 Exercícios em intensidade pesada acima dos 85% do $VO_{2m\acute{a}x.}$ colaboram para
784 adaptações como o aumento dos estoques de glicogênio muscular, fosfocreatina e uma
785 maior resistência as concentrações de lactato, favorecendo aumento da resistência a
786 exercícios em maiores intensidades. Como mostrado na figura 11 (B) os animais NR NE
787 apresentaram aumento da velocidade máxima aos 90 dias de vida de 12% em relação
788 aos 75 dias. Em humanos sabe-se que períodos de 4 semanas de treinamento de alta
789 intensidade de natação, já promove tais adaptações com uma melhora da performance
790 refletida nas CTf em testes de esforço [98]. Em animais, períodos de 2 semanas [99] e
791 6 semanas de treinamento de alta intensidade [100] promoveram aumentos de
792 parâmetros fisiológicos como uma maior sensibilidade ao óxido nítrico (NO_2). Tal
793 adaptação é diretamente relacionada ao aumento de vasodilatação durante o exercício,
794 que colabora para um exercício prolongado em altas intensidades por fornecimento
795 favorecido de O_2 aos músculos.

796 Beneke mostra que a montagem de um programa de treinamento que visa a
797 melhora dos níveis de $VO_{2m\acute{a}x.}$ bem como aumento da velocidade e economia de
798 movimento, deve conter uma mistura das 3 intensidades de treinamento [66]. Como
799 exemplo, Seiler e Kijerland explicam que atletas de endurance ou corredores de longa
800 distância dividem seus treinos da seguinte forma: em torno de 60% abaixo do 1º limiar
801 de lactato aproximadamente 55% do $VO_{2m\acute{a}x.}$, com durações de treino entre 1 e 3 horas;
802 15% entre o 1º e 2º limiares que correspondem a 60 a 80% do $VO_{2m\acute{a}x.}$ com durações
803 não maiores que 60 minutos; entre 20 e 25% acima do 2º limiar com intensidade
804 maiores que 80% do $VO_{2m\acute{a}x.}$ com durações de no máximo 40 minutos [102]. Esta
805 divisão de treino reflete diretamente a forma como as adaptações musculares respeitam
806 a intensidade e o volume do treinamento.

807 Ingham expõe em seu trabalho que a quantidade de treino que o atleta de elite é
808 submetido favorece uma oxidação muito mais rápida de suas reservas energéticas em
809 virtude de todas as adaptações que ocorrem periféricamente nos músculos como já
810 explicado. Se o mesmo treinar muito tempo principalmente próximo do 2º limiar de
811 lactato (entre 75 – 85% $VO_{2m\acute{a}x.}$) em aproximadamente 3 dias esgota toda a sua reserva
812 energética, necessitando de grandes períodos de descanso para retorno aos
813 treinamentos [103]. É também devido a esta relação que atletas recreacionais com

814 menores volumes de treinamento respondem mais rápido as maiores cargas de
815 treinamento sem grandes consequências fisiológicas.

816 Os dados mostrados na figura 10 refletem diretamente as modificações em
817 virtude do treinamento em diferentes intensidades. Como notado aos 75 (figura B) e 90
818 dias de vida (figura C) os animais NN NP apresentaram maiores valores absolutos de
819 $VO_{2m\acute{a}x.}$. Estes dados quando relacionados com a figura 11 mostram que aos 75 dias de
820 vida os animais NN NE apresentaram valores de CTf similares ao animais NN NP,
821 porém com menores valores de $VO_{2m\acute{a}x.}$. Esta situação reflete uma melhora ou
822 adaptação do treinamento conhecida como economia de movimento, que é definida
823 como um menor gasto energético por minuto com o movimento. Favorecendo um
824 menor consumo de O_2 para produção de energia em cargas mais altas [104].

825 Já para os animais NR aos 75 dias de vida os valores de $VO_{2m\acute{a}x.}$ foram similares
826 e menores do que os dos animais NN, entretanto os animais NR NP apresentaram uma
827 economia de movimento que pode ser notada na figura 11 (A). Aos 90 dias de vida os
828 animais NR continuaram com menores valores de $VO_{2m\acute{a}x.}$ em relação aos animais NN,
829 e com CTf similares, sendo este fenômeno resultado do treinamento de alta intensidade
830 ao qual os animais NN NE foram submetidos nas últimas duas semanas de vida.

831 Com relação aos animais SED, estes confirmaram os dados da literatura, onde a
832 combinação entre sedentarismo e o excesso de peso resulta em menores valores de
833 $VO_{2m\acute{a}x.}$. É conhecido que o excesso de tecido adiposo durante o exercício provoca um
834 gasto calórico maior em virtude do maior peso que o indivíduo suporta durante o
835 exercício. Isto provoca fadiga precoce, hiperventilação entre outros parâmetros que
836 culminam para uma baixa captação de oxigênio durante a atividade e debilitada
837 produção de energia [105-107].

838 Sobre o baixo condicionamento físico dos animais programados
839 metabolicamente, mesmo quando submetidos a um programa de treinamento, é
840 possível afirmar que o $VO_{2m\acute{a}x.}$ pode ser influenciado por 5 fatores (sexo,
841 hereditariedade, nível de treinamento, modalidade de exercício e obesidade) como já
842 mostrado na revisão de literatura capítulo 2 (página 11, parágrafos 1 e 2). Além destes
843 motivos Nyholm et al. informa ainda sobre a relação existente entre menor captação de
844 oxigênio durante o exercício e a predisposição para o desenvolvimento do DM2 como

845 um fator limitante [19]. No presente trabalho podemos eliminar os fatores sexo, pois só
846 utilizamos animais machos, o fator hereditariedade uma vez que os genitores dos
847 animais de ambos os grupos não foram exercitados e modalidade do exercício, pois
848 ambos os grupos realizaram o mesmo tipo de exercício.

849 Dentre os fatores que podem ser considerados neste trabalho, o excesso de
850 peso aparenta ter papel chave nos dados encontrados (figura 7 D). Quando avaliada a
851 curva de crescimento dos animais é possível visualizar que a partir dos 60 dias de vida
852 os animais NR NE e NP começam a apresentar valores de peso mais altos que os
853 animais controle, mesmo não sendo estatisticamente diferente. Outro ponto importante
854 acontece por volta dos 70 dias de vida quando os animais NR NE receberam um treino
855 mais intenso. Como já explicado, tal situação é refletida na melhora que apresentam
856 aos 90 dias com relação ao condicionamento físico e ao peso corporal, fato este não
857 encontrado nos animais NR NP que tiveram peso menor, mas não diferente
858 estatisticamente dos animais NR SED.

859 Outra possível explicação é exposta por Nyholm et al. que mostra que pessoas
860 que são parentes de 1° grau de diabéticos tem tendência a desenvolver diabetes
861 apresentando sinais clínicos que são relacionados a uma possível predisposição para
862 resistência periférica a insulina. Dentre os sinais se destacam maior circunferência da
863 cintura, elevada concentração de insulina em jejum e uma maior glicemia quando
864 comparados aos congêneres sem histórico de DM 2. Além disto, quando comparados
865 em relação à quantidade de tempo gasto em atividades físicas não diferem dos sujeitos
866 sem histórico de diabetes, porém apresentam menores valores de condicionamento
867 físico refletidos pela diminuição da captação de oxigênio durante o exercício [20].
868 Queiroga et al. apresenta que gêmeos monozigóticos com diferenças na concentrações
869 de jejum de insulina e glicose, quando submetidos a teste de esforço, apresentam pior
870 condicionamento físico [108]. Apesar de não termos investigado os genitores dos
871 animais NR, não podemos descartar que este modelo apresenta todos os sinais clínicos
872 para desenvolvimento da diabetes, não dependendo de fatores hereditários.

873 É conhecido que o exercício desempenha um papel de normalizar a glicemia
874 sem influência da insulina por meio da translocação do GLUT-4 como já explicado na
875 revisão de literatura (capítulo 2, página 17, parágrafos 2 e 3). No entanto sabe-se que

876 diabéticos apresentam menores concentrações de GLUT-4 e que o exercício pode
877 ajudar a aumentar a quantidade desta proteína na membrana muscular [79, 109]. Outra
878 característica marcante de indivíduos com resistência periférica a insulina diz respeito à
879 quantidade de mitocôndrias musculares. Como já mencionado neste texto as
880 mitocôndrias são responsáveis pela respiração celular e pela transformação das fontes
881 energéticas em ATP, sendo encontradas em menores quantidades nos músculos de
882 diabéticos [101, 110-111] Estes autores também revelaram em seus estudos, que o
883 exercício físico é capaz de restaurar o conteúdo mitocondrial muscular de diabéticos.

884 Sobre o modelo ninhada reduzida, Rodrigues et al. afirma que estes animais aos
885 90 dias de vida e em condição de sedentarismo tem diminuição de GLUT-1 e GLUT-4 e
886 uma maior insulinemia de jejum quando comparados com animais normais [52].
887 Apesar do presente estudo não ter quantificado GLUT-4 nem a insulinemia de jejum
888 dos animais, pode-se hipotetizar que ratos NR submetidos a um programa de
889 treinamento moderado ou entre 55 e 65% do $VO_{2máx.}$, mesmo apresentando
890 normalização da glicemia tendem a apresentar menores quantidades de GLUT-4 e
891 maiores concentrações de insulina em jejum.

892

893 **7 CONCLUSÃO**

894

895

896

897 Em resumo os fenômenos apresentados neste trabalho mostram que a
898 superalimentação precoce em animais contribui para o excesso de peso e
899 consequências futuras. Dentre estas, estão à redução da captação máxima de oxigênio
900 durante o exercício, quando são submetidos a um programa de treinamento de
901 frequência e intensidades moderadas.

902 Os resultados do presente trabalho apontam a necessidade de novos estudos
903 focando o exercício moderado em programas de treinamento com aumento da
904 frequência semanal e duração da sessão. Bem como outros parâmetros bioquímicos,
905 para se investigar a possível causa desta não responsividade ao treinamento de
906 animais programados para obesidade pelo processo de ninhada reduzida.

907

908

909

910

REFERÊNCIAS

911
912
913
914

915
916
917

918
919

1. Enes, C.C. and B. Slater, *[Obesity in adolescence and its main determinants]*. Rev Bras Epidemiol, 2010. 13(1): p. 163-71.

920
921
922

2. Balducci, S., et al., *Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2010. 20(8): p. 608-17.

923
924

3. Alberti, K.G., et al., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*. Circulation, 2009. 120(16): p. 1640-5.

925
926
927

4. Saito, I., *Epidemiological evidence of type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, and cardiovascular disease in Japan*. Circ J, 2012. 76(5): p. 1066-73.

928
929
930

5. Borg, S., et al., *Obesity, survival, and hospital costs-findings from a screening project in Sweden*. Value Health, 2005. 8(5): p. 562-71.

931
932

6. Pereira-Lancha, L.O., P.L. Campos-Ferraz, and A.H. Lancha, Jr., *Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models*. Diabetes Metab Syndr Obes, 2012. 5: p. 75-87.

933
934

7. Henry, F.J., *Obesity prevention: the key to non-communicable disease control*. West Indian Med J, 2011. 60(4): p. 446-51.

935
936

8. Andreazzi, A.E., et al., *Impaired sympathoadrenal axis function contributes to enhanced insulin secretion in prediabetic obese rats*. Exp Diabetes Res, 2011. 2011: p. 947917.

937
938
939

9. Wojtyla, A., et al., *Epidemiological studies in Poland on effect of physical activity of pregnant women on the health of offspring and future generations - adaptation of the hypothesis development origin of health and diseases*. Ann Agric Environ Med, 2012. 19(2): p. 315-26.

940
941

10. Jansen, P.W., et al., *Children's eating behavior, feeding practices of parents and weight problems in early childhood: results from the population-based Generation R Study*. Int J Behav Nutr Phys Act, 2012. 9: p. 130.

942
943

11. Barker, D.J., et al., *Weight in infancy and death from ischaemic heart disease*. Lancet, 1989. 2(8663): p. 577-80.

944
945
946

12. Lucas, A., *Programming by early nutrition in man*. Ciba Found Symp, 1991. 156: p. 38-50; discussion 50-5.

947
948

13. Barker, D.J., *In utero programming of chronic disease*. Clin Sci (Lond), 1998. 95(2): p. 115-28.

949
950

14. Whincup, P.H., et al., *Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review*. JAMA, 2008. 300(24): p. 2886-97.

951
952

953
954

- 955 15. Bray, G.A., S. Paeratakul, and B.M. Popkin, *Dietary fat and obesity: a review of*
956 *animal, clinical and epidemiological studies*. *Physiol Behav*, 2004. 83(4): p. 549-55.
- 957 16. Bassett, D.R., Jr. and E.T. Howley, *Limiting factors for maximum oxygen uptake and*
958 *determinants of endurance performance*. *Med Sci Sports Exerc*, 2000. 32(1): p. 70-84.
- 959 17. McArdle, W.D., F.I. Katch, and V.L. Katch, *Fisiologia do exercício: nutrição, energia*
960 *e desempenho humano.*, ed. G. Koogan. Vol. 7. ed. 2011, Rio de Janeiro - Brazil.
- 961 18. de Azevedo, P.H.S.M., et al., *BIOMOTRICITY ROUNDTABLE - MAXIMUM*
962 *OXYGEN CONSUMPTION*. *Brazilian Journal of Biomotricity*, 2010. 4(1): p. 3-13.
- 963 19. Nyholm, B., et al., *Insulin resistance in relatives of NIDDM patients: the role of*
964 *physical fitness and muscle metabolism*. *Diabetologia*, 1996. 39(7): p. 813-22.
- 965 20. Nyholm, B., et al., *Evidence of increased visceral obesity and reduced physical fitness*
966 *in healthy insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients*. *Eur J*
967 *Endocrinol*, 2004. 150(2): p. 207-14.
- 968 21. Pettitt, D.J., et al., *Obesity in offspring of diabetic Pima Indian women despite normal*
969 *birth weight*. *Diabetes Care*, 1987. 10(1): p. 76-80.
- 970 22. Sung, K. and S. Bae, *Effects of a regular walking exercise program on behavioral and*
971 *biochemical aspects in elderly people with type II diabetes*. *Nurs Health Sci*, 2012.
- 972 23. Achten, J., M. Gleeson, and A.E. Jeukendrup, *Determination of the exercise intensity*
973 *that elicits maximal fat oxidation*. *Med Sci Sports Exerc*, 2002. 34(1): p. 92-7.
- 974 24. Achten, J. and A.E. Jeukendrup, *Maximal fat oxidation during exercise in trained*
975 *men*. *Int J Sports Med*, 2003. 24(8): p. 603-8.
- 976 25. Terjung, R.L. and H. Kaciuba-Uscilko, *Lipid metabolism during exercise: influence*
977 *of training*. *Diabetes Metab Rev*, 1986. 2(1-2): p. 35-51.
- 978 26. Tsetsonis, N.V. and A.E. Hardman, *Effects of low and moderate intensity treadmill*
979 *walking on postprandial lipaemia in healthy young adults*. *Eur J Appl Physiol Occup*
980 *Physiol*, 1996. 73(5): p. 419-26.
- 981 27. Avery, M.E. and J. Mead, *Surface properties in relation to atelectasis and hyaline*
982 *membrane disease*. *AMA J Dis Child*, 1959. 97(5, Part 1): p. 517-23.
- 983 28. Kermack, W.O., A.G. McKendrick, and P.L. McKinlay, *Death-rates in Great Britain*
984 *and Sweden: Expression of Specific Mortality Rates as Products of Two Factors, and*
985 *some Consequences thereof*. *J Hyg (Lond)*, 1934. 34(4): p. 433-57.
- 986 29. Ravelli, G.P., Z.A. Stein, and M.W. Susser, *Obesity in young men after famine*
987 *exposure in utero and early infancy*. *N Engl J Med*, 1976. 295(7): p. 349-53.
- 988 30. Barker, D.J., *The fetal and infant origins of disease*. *Eur J Clin Invest*, 1995. 25(7): p.
989 457-63.
- 990 31. Lucas, A., et al., *Early diet in preterm babies and developmental status at 18 months*.
991 *Lancet*, 1990. 335(8704): p. 1477-81.
- 992 32. Lucas, A., et al., *Early diet of preterm infants and development of allergic or atopic*
993 *disease: randomised prospective study*. *BMJ*, 1990. 300(6728): p. 837-40.
- 994 33. Lucas, A., *Does early diet program future outcome?* *Acta Paediatr Scand Suppl*, 1990.
995 365: p. 58-67.
- 996 34. Schuchardt, J.P., et al., *Significance of long-chain polyunsaturated fatty acids*
997 *(PUFAs) for the development and behaviour of children*. *Eur J Pediatr*, 2010. 169(2):
998 p. 149-64.
- 999 35. Draganski, B. and A. May, *Training-induced structural changes in the adult human*
1000 *brain*. *Behav Brain Res*, 2008. 192(1): p. 137-42.

- 1001 36. Michelini, L.C., *The NTS and integration of cardiovascular control during exercise in*
 1002 *normotensive and hypertensive individuals.* Curr Hypertens Rep, 2007. 9(3): p. 214-
 1003 21.
- 1004 37. Davies, G.A., *Exercise in pregnancy.* J Obstet Gynaecol Can, 2003. 25(6): p. 451-3.
- 1005 38. Artal, R., *Exercise: the alternative therapeutic intervention for gestational diabetes.*
 1006 Clin Obstet Gynecol, 2003. 46(2): p. 479-87.
- 1007 39. Committee., C.D.A.C.P.G.E., *Canadian Diabetes Association clinical practice*
 1008 *guidelines*
 1009 *for the prevention and management of diabetes in Canada.* Can J. Diabetes., 2003. 27: p. 99-
 1010 105.
- 1011 40. Spellacy, W.N., et al., *Macrosomia--maternal characteristics and infant complications.*
 1012 Obstet Gynecol, 1985. 66(2): p. 158-61.
- 1013 41. Mondestin, M.A., et al., *Birth weight and fetal death in the United States: the effect of*
 1014 *maternal diabetes during pregnancy.* Am J Obstet Gynecol, 2002. 187(4): p. 922-6.
- 1015 42. Chief Medical Officer, *At Least Five A Week: Evidence on the Impact of Physical*
 1016 *Activity and Its Relationship to Health*, D.o. Health, Editor. 2004: London - UK.
- 1017 43. Anderson, D.A., et al., *Weight goals in a college-age population.* Obes Res, 2003.
 1018 11(2): p. 274-8.
- 1019 44. Powers, S.K. and E.T. Howley, *Exercise Physiology: Theory and Application to*
 1020 *Fitness and Performance.* Vol. 1. 2000, Barueri - SP - Brazil.
- 1021 45. de Oliveira, J.C., et al., *Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced*
 1022 *insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase*
 1023 *fat accumulation.* J Endocrinol, 2013. 216(2): p. 195-206.
- 1024 46. Scomparin, D.X., et al., *Swim training applied at early age is critical to adrenal*
 1025 *medulla catecholamine content and to attenuate monosodium L-glutamate-obesity*
 1026 *onset in mice.* Life Sci, 2006. 79(22): p. 2151-6.
- 1027 47. Lorden, J.F. and A. Caudle, *Behavioral and endocrinological effects of single*
 1028 *injections of monosodium glutamate in the mouse.* Neurobehav Toxicol Teratol, 1986.
 1029 8(5): p. 509-19.
- 1030 48. Katoh, A., Y. Ueta, and H. Suzuki, *[The use of genetic modification techniques in the*
 1031 *fluorescent visualization of oxytocin neurons].* J UOEH, 2013. 35(2): p. 165-71.
- 1032 49. Plagemann, A., et al., *Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired*
 1033 *malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations*
 1034 *in adulthood of neonatally overfed rats.* Brain Res, 1999. 836(1-2): p. 146-55.
- 1035 50. Boubred, F., et al., *Early postnatal overfeeding induces early chronic renal dysfunction*
 1036 *in adult male rats.* Am J Physiol Renal Physiol, 2009. 297(4): p. F943-51.
- 1037 51. Davidowa, H. and A. Plagemann, *Insulin resistance of hypothalamic arcuate neurons*
 1038 *in neonatally overfed rats.* Neuroreport, 2007. 18(5): p. 521-4.
- 1039 52. Rodrigues, A.L., et al., *Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose*
 1040 *uptake in adipocytes after early overnutrition.* J Endocrinol, 2007. 195(3): p. 485-94.
- 1041 53. Dunger, D.B., B. Salgin, and K.K. Ong, *Session 7: Early nutrition and later health*
 1042 *early developmental pathways of obesity and diabetes risk.* Proc Nutr Soc, 2007. 66(3):
 1043 p. 451-7.
- 1044 54. Velkoska, E., T.J. Cole, and M.J. Morris, *Early dietary intervention: long-term effects*
 1045 *on blood pressure, brain neuropeptide Y, and adiposity markers.* Am J Physiol
 1046 Endocrinol Metab, 2005. 288(6): p. E1236-43.

- 1047 55. Sung, K. and S. Bae, *Effects of a regular walking exercise program on behavioral and*
 1048 *biochemical aspects in elderly people with type II diabetes.* Nurs Health Sci, 2012.
 1049 14(4): p. 438-45.
- 1050 56. Dishman, R.K., et al., *Neurobiology of exercise.* Obesity (Silver Spring), 2006. 14(3):
 1051 p. 345-56.
- 1052 57. van Praag, H., *Neurogenesis and exercise: past and future directions.* Neuromolecular
 1053 Med, 2008. 10(2): p. 128-40.
- 1054 58. Xu, F. and E.C. Rhodes, *Oxygen uptake kinetics during exercise.* Sports Med, 1999.
 1055 27(5): p. 313-27.
- 1056 59. Grassi, B., *Skeletal muscle VO₂ on-kinetics: set by O₂ delivery or by O₂ utilization?*
 1057 *New insights into an old issue.* Med Sci Sports Exerc, 2000. 32(1): p. 108-16.
- 1058 60. AKALAN, C., L. KRAVITZ, and R.A. ROBERGS, *VO₂max.: Essentials of the most*
 1059 *widely used test in exercise physiology.* . Health & Fitness Journal, 2004. 8(3): p. 5-9.
- 1060 61. Jones, A.M. and M. Burnley, *Oxygen uptake kinetics: an underappreciated*
 1061 *determinant of exercise performance.* Int J Sports Physiol Perform, 2009. 4(4): p. 524-
 1062 32.
- 1063 62. BARCLAY, J., *Mechanisms wich control VO₂ near VO₂ max: the functional unit.*
 1064 *Medicine and Sciences in Sports and Exercise*, 1995. 27: p. 35-36.
- 1065 63. Saltin, B. and J.A. Calbet, *Point: in health and in a normoxic environment, VO₂ max*
 1066 *is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow.* J Appl Physiol,
 1067 2006. 100(2): p. 744-5.
- 1068 64. McARDLE, W.D., F.I. KATCH, and V.L. KATCH, *Fisiologia do Exercício. Energia,*
 1069 *Nutrição e Desempenho Humano*, ed. ed. 1998, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- 1070 65. Wagner, P.D., *Counterpoint: in health and in normoxic environment VO₂max is*
 1071 *limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow.* J Appl Physiol,
 1072 2006. 100(2): p. 745-7; discussion 747-8.
- 1073 66. Beneke, R., R.M. Leithauser, and O. Ochentel, *Blood lactate diagnostics in exercise*
 1074 *testing and training.* Int J Sports Physiol Perform, 2011. 6(1): p. 8-24.
- 1075 67. Maughan, R., M. Gleeson, and P.L. Greenhaff, *Biochemistry of Exercise and*
 1076 *Training 1*
 1077 ed, ed. Manole. 2000, São Paulo. 240.
- 1078 68. Hughson, R.L., *Oxygen uptake kinetics: historical perspective and future directions.*
 1079 *Appl Physiol Nutr Metab*, 2009. 34(5): p. 840-50.
- 1080 69. Faude, O., W. Kindermann, and T. Meyer, *Lactate threshold concepts: how valid are*
 1081 *they?* Sports Med, 2009. 39(6): p. 469-90.
- 1082 70. Caspersen, C.J., K.E. Powell, and G.M. Christenson, *Physical activity, exercise, and*
 1083 *physical fitness: definitions and distinctions for health-related research.* Public Health
 1084 Rep, 1985. 100(2): p. 126-31.
- 1085 71. Komi, P.V. and J. Karlsson, *Skeletal muscle fibre types, enzyme activities and physical*
 1086 *performance in young males and females.* Acta Physiol Scand, 1978. 103(2): p. 210-8.
- 1087 72. de Oliveira, J.C., et al., *Metabolic imprinting by maternal protein malnourishment*
 1088 *impairs vagal activity in adult rats.* J Neuroendocrinol, 2011. 23(2): p. 148-57.
- 1089 73. Shaw, K., et al., *Exercise for overweight or obesity.* Cochrane Database Syst Rev,
 1090 2006(4): p. CD003817.
- 1091 74. Strasser, B. and W. Schobersberger, *Evidence for resistance training as a treatment*
 1092 *therapy in obesity.* J Obes, 2011. 2011.

- 1093 75. Ahlborg, G., et al., *Substrate turnover during prolonged exercise in man. Splanchnic*
 1094 *and leg metabolism of glucose, free fatty acids, and amino acids.* J Clin Invest, 1974.
 1095 53(4): p. 1080-90.
- 1096 76. O'Neill, H.M., *AMPK and Exercise: Glucose Uptake and Insulin Sensitivity.* Diabetes
 1097 Metab J, 2013. 37(1): p. 1-21.
- 1098 77. Hayashi, T., et al., *Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the*
 1099 *effect of muscle contraction on glucose transport.* Diabetes, 1998. 47(8): p. 1369-73.
- 1100 78. O'Neill, H.M., et al., *AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null*
 1101 *mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and*
 1102 *glucose uptake during exercise.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. 108(38): p. 16092-7.
- 1103 79. Christ-Roberts, C.Y., et al., *Exercise training increases glycogen synthase activity and*
 1104 *GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2*
 1105 *diabetic subjects.* Metabolism, 2004. 53(9): p. 1233-42.
- 1106 80. Ferreira, J.C., et al., *Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise*
 1107 *training.* Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007. 34(8): p. 760-5.
- 1108 81. Kemi, O.J., et al., *Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal*
 1109 *muscle hypertrophy.* J Appl Physiol, 2002. 93(4): p. 1301-9.
- 1110 82. Wisloff, U., et al., *Intensity-controlled treadmill running in rats: VO(2 max) and*
 1111 *cardiac hypertrophy.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. 280(3): p. H1301-10.
- 1112 83. Rodrigues, B., et al., *Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and*
 1113 *oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats.* Cardiovasc
 1114 Diabetol, 2007. 6: p. 38.
- 1115 84. Billat, V., et al., *Reproducibility of running time to exhaustion at VO2max in subelite*
 1116 *runners.* Med Sci Sports Exerc, 1994. 26(2): p. 254-7.
- 1117 85. di Prampero, P.E., *The energy cost of human locomotion on land and in water.* Int J
 1118 Sports Med, 1986. 7(2): p. 55-72.
- 1119 86. Negrao, C.E., et al., *Vagal function impairment after exercise training.* J Appl Physiol,
 1120 1992. 72(5): p. 1749-53.
- 1121 87. Trinder, P., *Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a*
 1122 *non-carcinogenic chromogen.* J Clin Pathol, 1969. 22(2): p. 158-61.
- 1123 88. Plagemann, A., et al., *Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation*
 1124 *becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic*
 1125 *syndrome.* J Physiol, 2009. 587(Pt 20): p. 4963-76.
- 1126 89. Rodrigues, A.L., et al., *Postnatal early overnutrition changes the leptin signalling*
 1127 *pathway in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis of young and adult rats.* J Physiol,
 1128 2009. 587(Pt 11): p. 2647-61.
- 1129 90. Boullu-Ciocca, S., et al., *Postnatal diet-induced obesity in rats upregulates systemic*
 1130 *and adipose tissue glucocorticoid metabolism during development and in adulthood: its*
 1131 *relationship with the metabolic syndrome.* Diabetes, 2005. 54(1): p. 197-203.
- 1132 91. Toledo, F.G. and B.H. Goodpaster, *The role of weight loss and exercise in correcting*
 1133 *skeletal muscle mitochondrial abnormalities in obesity, diabetes and aging.* Mol Cell
 1134 Endocrinol, 2013.
- 1135 92. Bronstad, E., et al., *Aerobic exercise training improves right- and left ventricular*
 1136 *systolic function in patients with COPD.* COPD, 2013. 10(3): p. 300-6.
- 1137 93. Romijn, J.A., et al., *Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation*
 1138 *during strenuous exercise.* J Appl Physiol, 1995. 79(6): p. 1939-45.

- 1139 94. Dantas, E.M., et al., *Effects of chronic treadmill training on body mass gain and*
1140 *visceral fat accumulation in overfed rats.* Braz J Med Biol Res, 2010. 43(5): p. 515-21.
- 1141 95. Coyle, E.F., *Substrate utilization during exercise in active people.* Am J Clin Nutr,
1142 1995. 61(4 Suppl): p. 968S-979S.
- 1143 96. Karlsson, J. and B. Saltin, *Diet, muscle glycogen, and endurance performance.* J Appl
1144 Physiol, 1971. 31(2): p. 203-6.
- 1145 97. Burstein, R., et al., *Acute reversal of the enhanced insulin action in trained athletes.*
1146 *Association with insulin receptor changes.* Diabetes, 1985. 34(8): p. 756-60.
- 1147 98. Soutanakis, H.N., M.F. Mandaloufas, and T.I. Platanou, *Lactate threshold and*
1148 *performance adaptations to 4 weeks of training in untrained swimmers: volume vs.*
1149 *intensity.* Journal of strength and conditioning research, 2012. 26(1): p. 131-37.
- 1150 99. Bexfield, N.A., et al., *Adaptations to high-intensity intermittent exercise in rodents.* J
1151 Appl Physiol, 2009. 107(3): p. 749-54.
- 1152 100. Murias, J.M., et al., *High-intensity endurance training results in faster vessel-specific*
1153 *rate of vasorelaxation in type 1 diabetic rats.* PLoS One, 2013. 8(3): p. e59678.
- 1154 101. Szendroedi, J. and M. Roden, *Mitochondrial fitness and insulin sensitivity in humans.*
1155 *Diabetologia*, 2008. 51(12): p. 2155-67.
- 1156 102. Seiler, S., *What is best practice for training intensity and duration distribution in*
1157 *endurance athletes?* Int J Sports Physiol Perform, 2010. 5(3): p. 276-91.
- 1158 103. Ingham, S.A., et al., *Physiological and performance effects of low- versus mixed-*
1159 *intensity rowing training.* Med Sci Sports Exerc, 2008. 40(3): p. 579-84.
- 1160 104. Beneke, R. and M. Hutler, *The effect of training on running economy and*
1161 *performance in recreational athletes.* Med Sci Sports Exerc, 2005. 37(10): p. 1794-9.
- 1162 105. Washburn, R.A. and D.R. Seals, *Peak oxygen uptake during arm cranking for men*
1163 *and women.* J Appl Physiol, 1984. 56(4): p. 954-7.
- 1164 106. Dreher, M. and H.J. Kabitz, *Impact of obesity on exercise performance and*
1165 *pulmonary rehabilitation.* Respirology, 2012. 17(6): p. 899-907.
- 1166 107. Dagan, S.S., et al., *Waist circumference vs body mass index in association with*
1167 *cardiorespiratory fitness in healthy men and women: a cross sectional analysis of 403*
1168 *subjects.* Nutr J, 2013. 12: p. 12.
- 1169 108. Queiroga, M.R., et al., *Glucose metabolism in discordant monozygotic twins for*
1170 *cardiorespiratory fitness.* Rev Paul Pediatr, 2013. 31(1): p. 77-82.
- 1171 109. Zierath, J.R., et al., *Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4*
1172 *content in skeletal muscle from patients with NIDDM.* Diabetologia, 1996. 39(10): p.
1173 1180-9.
- 1174 110. Szendroedi, J., E. Phielix, and M. Roden, *The role of mitochondria in insulin*
1175 *resistance and type 2 diabetes mellitus.* Nat Rev Endocrinol, 2012. 8(2): p. 92-103.
- 1176 111. Phielix, E. and M. Mensink, *Type 2 diabetes mellitus and skeletal muscle metabolic*
1177 *function.* Physiol Behav, 2008. 94(2): p. 252-8.
- 1178
- 1179
- 1180
- 1181
- 1182
- 1183
- 1184
- 1185

1186 **Physical performance versus programmed obesity: can long-term and**
1187 **moderate exercise make a difference?**

1188 **Running head:** Programmed obesity impaired physical performance

1189 Gabriel Sergio Fabricio²; Kesia Palma Rigo¹; Douglas Lopes Almeida¹; Ananda Malta¹;
1190 Laize Peron Tófolo²; Wilson Rinaldi²; Amanda Bianchi Trombini¹; Audrei Pavanello¹;
1191 Livia Helena Tonella¹; Latifa Abdennebi-Najar³; Paulo Cezar de Freitas Mathias¹

1192 ¹Laboratory of Secretion Cell Biology, Department of Biotechnology, Genetics and Cell
1193 Biology, State University of Maringa – 87020-900 Maringá/PR, Brazil

1194 ²Laboratory of Exercise Physiology, Department of Physical Education, State University
1195 of Maringa – 87020-900 Maringá/PR, Brazil

1196 ³UPSP-EGEAL Institut Polytechnique LaSalle de Beauvais 6000 - Beauvais Cedex,
1197 France.

1198

1199 **Contactname:** Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias; Departamento de Biotecnologia,
1200 Genética e Biologia Celular; Laboratório de Biologia Celular da Secreção – Bloco H67,
1201 Sala 19, Universidade Estadual de Maringá/UEM, Avenida Colombo 5970, 87020-900,
1202 Maringá/PR – Brazil - Phone/Fax: + 55 (44) 3011 4892, e-mail address:

1203 pcfmathias@gmail.com

1204

1205

1206

1207

1208

1209

1210

1211

1212 **Abstract**

1213 Obesity is associated with low levels of maximal oxygen uptake (VO_{2max}). The present
1214 study aimed to investigate whether moderate exercise training ameliorates VO_{2max} of
1215 programmed obese rats from small litters. After birth, the number of male offspring rats
1216 was adjusted to 9 pups for a normal litter (NL) or 3 pups for a small litter (SL). At
1217 weaning, 21-day-old pups were separated into 4 groups: NL sedentary, NL exercised,
1218 SL sedentary and SL exercised. From 21 to 90 days of life, the animals were submitted
1219 to moderate exercise training in a rodent treadmill. At 30, 45, 60, 75, and 90 days of life,
1220 all animals were submitted to a maximal effort test for VO_{2max} determination. Following
1221 overnight fasting, 90-day-old rats were given an intravenous glucose tolerance test.
1222 After euthanasia by anesthetic overdose, the retroperitoneal fat pads were removed and
1223 weighed. Exercise training reduced body weight, glucose intolerance and retroperitoneal
1224 fat in NL and SL animals. Exercise increased VO_{2max} and final workload in both groups;
1225 however, SL improvement was significantly less than that of NL exercised rats. The
1226 inability to ameliorate VO_{2max} and workload performances may be attributed to metabolic
1227 dysfunction presented by obese rats programmed by litter size.

1228

1229 **Keywords:** metabolic programming; weight excess; physical exercise; impaired
1230 metabolism

1231

1232

1233

1234

1235

1236

1237 **Introduction**

1238 In the last three decades, obesity has been an important public health problem in
1239 developed and developing countries (Enes and Slater 2010). Excess weight is strongly
1240 associated with a sedentary lifestyle, low aerobic fitness and low values of maximum
1241 oxygen consumption (VO_{2max}) during exercise (Bassett and Howley 2000). VO_{2max}
1242 reflects the oxygen (O_2) used by pulmonary, cardiac and muscle systems to produce
1243 energy through aerobic pathways during exercise (de Azevedo, Araújo; et al. 2010).

1244 The VO_{2max} during exercise is affected by the following: the amount of total muscle mass
1245 involved in the movement (Akalan, Kravitz et al. 2004); muscle mitochondrial volume;
1246 amount of blood hemoglobin, cardiac output, muscle blood volume and diffusion of O_2
1247 into the muscles (Saltin and Calbet 2006); peripheral insulin resistance (Nyholm, Nielsen
1248 et al. 2004); and age and training status (de Azevedo, Araújo; et al. 2010). Overweight
1249 contributes to impaired lipid metabolism, which leads to an excess of free fatty acids in
1250 the blood. It has been shown that two weeks of chronic supplementation with fatty acids
1251 contributes to the reduction of VO_{2max} values, leading to reduced aerobic performance in
1252 cyclists (Kraegen, Storlien et al. 1989). Additionally, dyslipidemia induces an increase in
1253 intramuscular fat, leading to a reduction in aerobic endurance (Shaw, Gennat et al.
1254 2006).

1255 Studies have shown that an exercise program with high intensity in short periods
1256 improves VO_{2max} (Murias, Dey et al. 2013) and lowers or does not change insulin
1257 sensitivity (Hansen, Dendale et al. 2009). However, moderate exercise (55-70% of
1258 VO_{2max}) induces an increase in tissue insulin sensitivity (Houmard, Tanner et al. 2004),
1259 even when a different caloric grade of diet is offered (Boyadjiev 1996). In humans,

1260 moderate exercise also provokes a decrease in body weight and glycemic improvement
1261 (Sung and Bae 2012). Moderate activities promote greater mobilization of fat stores for
1262 energy production than high-intensity exercises. It is also important to consider that
1263 moderate exercise improves tissue insulin sensitivity in obese humans and rodents
1264 (Achten, Gleeson et al. 2002, Achten and Jeukendrup 2003). Exercise frequency can
1265 influence VO_{2max} in both lean and obese individuals (Pratley, Hagberg et al. 2000).
1266 However, the effect of frequency on the increase or decrease in VO_{2max} is still
1267 controversial (Weston, Wisloff et al. 2013).

1268 Early overfeeding is a well-established model to study obesity and metabolic syndrome
1269 (MS) in rodents. Litter size is reduced just after birth, which allows an increase in milk
1270 availability to pups (Plagemann, Harder et al. 1999). Consequently, during growth, the
1271 offspring start to present the following hallmarks of MS: insulin resistance, glucose
1272 intolerance, hypertension, hyperinsulinemia, dyslipidemia and obesity (de Almeida,
1273 Fabricio et al. 2013). These obese rats show evident metabolism malfunction and may
1274 present altered aerobic performance. The present study aimed to investigate whether
1275 exercise training with moderate intensity and low frequency ameliorate VO_{2max} of obese
1276 rats programmed by small litter size.

1277

1278 **Methods**

1279 **Animals and experimental model:** All experiments were performed in accordance with the
1280 standards of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and approved by the
1281 Ethics Committee of the State University of Maringá. Pregnant Wistar rats were maintained in
1282 individual cages at a temperature of $23^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and 12-hour light cycle (light and dark). Animals
1283 received water and commercial chow (Nuvital, Curitiba, Brazil) *ad libitum* during lactation and

1284 gestation. At birth, litters were adjusted to 9 pups. Normal litters (NL) were maintained with 9
1285 pups until 21 days of life. The small litters (SL) had the number of pups reduced to 3 at the 3rd
1286 day of life, leading to hyperalimentation (Plagemann, Harder et al. 1999). Twenty-one-day-old
1287 males were separated from dams and placed in collective cages of 3 animals per cage. After
1288 weaning, the animals were separated into 4 groups: normal litter sedentary (NL SED); normal
1289 litter exercised (NL EXE); small litter sedentary (SL SED); and small litter exercised (SL EXE).
1290 All animals received commercial chow and water *ad libitum* between 21 and 90 days old.

1291 **Effort test:** At 30, 45, 60, 75 and 90 days of life, all animals in both groups performed an effort
1292 test for the determination of VO_{2max} utilizing a gas analyzer and individual treadmill for rodents
1293 (Panlab, Harvard Apparatus®, Cornellà- Barcelona - Spain). The test began with a warm up (5
1294 min/ 10 cm/s / 0° of inclination), after which the velocity was increased by 5 cm/s every 3
1295 minutes until the exhaustion of the animal (Ferreira, Rolim et al. 2007). At the end of the
1296 treadmill line, a grid of stainless steel emitted electrical stimuli (0.25 mA) to keep the animal in
1297 motion, as previously explained (Kemi, Loennechen et al. 2002). The animal's inability to
1298 maintain the pace was considered a sign of exhaustion (Rodrigues, Figueroa et al. 2007). The
1299 VO_{2max} was considered to be the value achieved when an increase in workload did not affect the
1300 consumption of $O_2 \pm 5\%$ (Rodrigues, De Souza et al. 2007). The final workload (fWL) was
1301 considered to be the lowest workload at which the plateau in O_2 consumption occurred (Billat,
1302 Renoux et al. 1994).

1303

1304 **Training protocol:** The protocol was adjusted by the value of fWL. The used intensities
1305 reflected the best fat burning for aerobic energy production, between 55 and 65% of VO_{2max}
1306 (Achten, Gleeson et al. 2002, Achten and Jeukendrup 2003). Adaptation to the training was
1307 performed over one week with 7 sessions. The sessions had durations of 10, 12, 14, 16, 18, 20
1308 and 20 minutes; the intensity started at 16 cm/s, and each two sessions, the intensity was
1309 increased by 2 cm/s, achieving a maximum of 22 cm/s. On the 29th day, one rest period of 24

1310 hours without activity was provided. On the 30th day, the effort test was performed. On the 32nd
1311 day, the training started. This same procedure was followed in all other test dates. All study
1312 groups underwent the same procedures. Training sessions lasted 40 minutes with intensities
1313 between 55-65% of VO_{2max} , 3 times a week for 2 weeks. The training was performed on a special
1314 treadmill for rodents (Panlab, Harvard Apparatus®, Cornellà- Barcelona - Spain) (Figure 01).

1315

1316

1317 **Obesity evaluation**

1318 **Intravenous glucose tolerance test (ivGTT):** At 90 days of life, the animals were weighed and
1319 anesthetized [(ketamine-xylazine, at doses of 3 mg and 0.6 mg/100 g of body weight (BW),
1320 respectively] and underwent surgery to implant a silicone cannula in the right jugular vein. After
1321 surgery, the animals were accommodated in individual cages. Twenty-four hours later, with an
1322 overnight fast of 12 h (20:00 to 8 h 00 min) animals underwent the ivGTT. The first blood sample
1323 (300-350 μ l) collected directly from the jugular vein through the cannula was considered time
1324 "0". Then, a glucose bolus (1 g/kg/BW) was injected. Blood samples (300-350 μ l) were collected
1325 at 5, 15, 30 and 45 minutes after administration of the glucose solution. Immediately after
1326 collection, the blood was centrifuged (3000 rpm for 5 minutes), and the supernatant was
1327 collected. For glucose measurement, the glucose oxidase method (de Oliveira, Lisboa et al.
1328 2013) by spectrophotometer (Semi-automatic biochemical analyzer, BIO 200FL, Bio Plus®, São
1329 Paulo/SP, Brazil) utilizing a commercial kit (Gold Analisa®, Belo Horizonte/MG, Brazil) was used.
1330 Increases in total glycemia were calculated using the area under the curves (AUC) for the 45
1331 minutes of ivGTT after subtracting fasting values.

1332

1333 **Quantification of fat stores:** Body weight (g) and retroperitoneal fat were measured. Fat was
1334 extracted and weighed to provide an estimate of the accumulation of fat tissue from the animal.
1335 The samples were weighed on a precision scale (Instrutherm®, Model BD-600, Brazil).

1336

1337 **Statistical analysis:** The results were compared by two-way analysis of variance (ANOVA),
1338 considering litter size and physical activity as the factors and stipulating $p < 0.05$ as the level of
1339 significance. Tukey's post hoc test was used to compare all pairs of columns for comparison
1340 between groups using the statistical program Graph Pad Prism 6.0.

1341 **Results**

1342

1343 **Body weight and fat deposit**

1344 Thirty days of exercise reduced the BW of sixty-day-old exercised NL and SL rats by 10%
1345 compared to their sedentary counterparts ($P_E < 0.001$; Table 1). Significant difference was
1346 maintained at 90 days of life ($P_E < 0.001$). Exercise reduced the retroperitoneal fat pad, which is
1347 an index of obesity (NL: 23% and SL: 38%; $P_E < 0.001$, Table 1). Interestingly, the positive effect
1348 of exercise on the retroperitoneal fat pad was more evident in SL rats, reflecting in a significant
1349 interaction between exercise and litter ($P_I < 0.05$).

1350 **Glucose tolerance ivGTT**

1351 During ivGTT, animals presented an increase in glycemia 5 minutes after the glucose bolus
1352 (Figure 02 A). Fifteen minutes later, the blood glucose levels were close to normal values
1353 (Figure 02 A). The AUC showed that glycemia in SL was increased by 10% compared with NL
1354 animals ($P < 0.001$, Figure 2B). Exercise attenuated the SL glycemia response, reflected by the
1355 significant exercise x litter interaction ($P_I < 0.01$).

1356 **Relative values of VO_{2max}**

1357 At 30 days of life (Figure 03 A), animals showed similar VO_{2max} values. At 75 days of life (Figure
1358 03 B), exercise improved VO_{2max} in NL and SL animals ($P_E < 0.001$). At 90 days of life (Figure 03
1359 C), exercise induced a significant improvement in VO_{2max} ($P_E < 0.001$), however, this effect was
1360 not evident in SL animals, suggested by the significant interaction between exercise and litter
1361 ($P_I < 0.05$).

1362 **Absolute values of final work load (fWL)**

1363 At 75 days of life (Figure 04 A), exercise improved the fWL 10-fold, with similar effects in NL and
1364 SL animals ($P_E < 0.001$). At 90 days of life (Figure 04 B), exercise contributed to an increase in
1365 the absolute values of fWL ($P_E < 0.001$). Nonetheless, the positive effect of exercise on fWL was
1366 attenuated in SL animals, reflected by the significant interaction of exercise x litter ($P_I < 0.05$).

1367
1368
1369

Discussion

1370 Exercise training was not able to enhance VO_{2max} in SL-induced obese adult rats. These data
1371 were obtained with an exercise program that used 55-65% VO_{2max} during the entire 8 weeks of
1372 training on a treadmill. Age and effort test were always taken into account of correct value to
1373 maintain the proportion of VO_{2max} constant at approximately 55-65%. A moderate running
1374 exercise program between 55-75% of VO_{2max} for 90 or 150 minutes per week divided into 3 or 5
1375 sessions promoted reduced BW, increased insulin sensitivity, and other metabolic improvements
1376 that contributed to increased VO_{2max} (Sung and Bae 2012). While fWL was enhanced in trained
1377 rats, the improvement in programmed obese animals was much less than that in lean rats.
1378 Conversely, high intensity exercise improved VO_{2max} , fWL and metabolic parameters (glycemia,
1379 dyslipidemia and insulin resistance) associated with BW loss in obese humans, suggesting that
1380 exercise intensity may affect differently the metabolism (Weston, Wisloff et al. 2013).

1381 It has been shown that exercise effects are dependent upon duration, frequency and intensity
1382 (Romijn, Coyle et al. 1995). The present protocol used section's duration of 40 minutes with a
1383 workload between 55%-65% of VO_{2max} (moderate intensity) over all experimental period. This
1384 quantity of exercise was shown to be sufficient to produce beneficial effects such as reducing
1385 body fat stores (Liu, Goodman et al. 2012). Exercise at an intensity of 55-65% VO_{2max} for more
1386 than 30 minutes per day induces high fat store utilization via aerobic pathway, which can be
1387 confirmed by a low blood lactate concentration (Achten and Jeukendrup 2003). Although,
1388 exercise intensities above 85% of VO_{2max} (high or severe intensity) result in less use of fat stores
1389 but mobilize large amounts of muscle mass, which contribute to BW and lean mass reduction

1390 (Achten and Jeukendrup 2003). Most of the studies have shown the benefit of exercise on
1391 metabolism using exercise training with 5 sessions/week (Houmard, Tanner et al. 2004). The
1392 current work used low frequency (3 sessions/week) exercise training and was still able to
1393 improve VO_{2max} , fWL, and glucose tolerance. These data accords with results of intraperitoneal
1394 glucose tolerance test published by Scomparin et al. (2011) who showed that mice programmed
1395 to obesity by MSG that underwent training in chronic swimming with moderate intensity and low
1396 frequency improved glucose tolerance compared to non-exercised animals (Scomparin,
1397 Grassioli et al. 2011). It is important to consider that the timing of analysis following the exercise
1398 may affect the results on glycemia. While performing any type of physical activity, an organism
1399 needs blood glucose for rapid energy production for muscle contraction. Glucose is supplied by
1400 the degradation of energy sources such as muscle glycogen during and after exercise so that
1401 glycemia does not changes (Coyle 1995). The production of glucose to maintain constant
1402 glycemia remains for up to 36 hours after exercise sessions, which is helped by increased
1403 muscle insulin sensitivity (O'Neill 2013). In the current work, blood and fat pads from the rats
1404 were collected 24 hours after the last exercise training session.

1405 The present results shows that exercised rats had a reduction of BW at 90 days old of life
1406 compared to sedentary congeners. Additionally, Dantas et al. showed that SL rats submitted to
1407 chronic training (8 weeks) with moderate intensity for 5 sessions/week presented a reduction of
1408 BW (Dantas, Pimentel et al. 2010). Our laboratory has also shown by Rinaldi et al. unpublished
1409 observation that SL rats submitted to a moderate exercise protocol 3 times/week had reduced
1410 BW, this work used an protocol proposed by Negrão et al. (1992) (Negrao, Moreira et al. 1992).
1411 Nonetheless, the animals submitted to Negrão's protocol at 70 days old received an overload of
1412 training with intensities higher than 80% of VO_{2max} (intensity high or severe). The overload
1413 exercise may have contributed to the degradation of muscle mass, as well as energy sources for
1414 the large calorie expenditure, helping to reduce BW. It has been shown that obesity contributes
1415 to a worse VO_{2max} (Rowland 2007). On the other hand, acute training protocols (less than 8

1416 weeks) at high intensity generated increased muscle glycogen and phosphocreatine stores,
1417 among other adaptations that contributed to increased levels of VO_{2max} (Beneke, Leithauser et
1418 al. 2011). In rats, periods of 2 weeks (Bexfield, Parcell et al. 2009) and 6 weeks of high-intensity
1419 training (Murias, Dey et al. 2013) increased VO_{2max} , which is related to increases in
1420 vasodilatation during exercise (Araneda, Urbina-Stagno et al. 2013).

1421 Even presenting low improvement of VO_{2max} SL rats showed significant reduction in tissue fat
1422 accretion compared with NL rats. Short- or long-term exercise training, with low or high intensity,
1423 can reduce fat tissue storage in obese human and animals (Bouchard, Tremblay et al. 1990,
1424 Wang, Chen et al. 2008). These results suggest that exercise can burn excess fat tissue;
1425 however, improvement of VO_{2max} and fWL are dependent on others factors beyond fat loss.
1426 VO_{2max} may be influenced by many factors, such as sex, heredity, training level, mode of
1427 exercise, and cardiac output (Saltin and Calbet 2006, de Azevedo, Araújo; et al. 2010).
1428 Metabolic dysfunction also influences VO_{2max} performance. It has been shown that patients with
1429 Diabetes type 2, present lower oxygen uptake during exercise (Nyholm, Nielsen et al. 2004).
1430 Furthermore, physical performance assays in young animals (rapid developmental phase)
1431 showed a dissociation on fWL and VO_{2max} ; while the fWL increased from 4 to 8 weeks of life, the
1432 VO_{2max} was decreased (Yano and Nagao 1995). They suggested that during growth, different
1433 factors affected the VO_{2max} and fWL. This condition is also attributed the changes in muscular
1434 and bone structure as length and amount of enzymes responsible for muscle breath (Castagna,
1435 Manzi et al. 2007).

1436 Considering the developmental origins of health and disease (DOHaD) concept, which is the
1437 idea that injuries such as malnourishment or overnourishment during early life or perinatal and
1438 adolescent phases increase the risk of cardiometabolic diseases when the adolescent becomes
1439 an adult (de Oliveira, Lisboa et al. 2013), precocious exercise training as implemented in the
1440 current work could counteract the metabolic programming and VO_{2max} performance impairment
1441 imposed by litter reduction. While moderate training started at weaning, which covers the

1442 adolescent phase, was able to inhibit obesity onset and improve metabolism, training initiated in
1443 adulthood did not affect obesity onset in rodents (Scomparin, Grassioli et al. 2011).
1444 While precocious moderate exercise training attenuated obesity onset induced in SL rats,
1445 oxygen uptake was compromised, which may suggest that the current exercise training protocol
1446 was not able to improve VO_{2max} in obese rats; however, exercise started in perinatal life,
1447 pregnancy and/or lactation may be more efficient in those windows of metabolic programming.

1448

1449 **Perspective**

1450

1451 Adult rats programmed to obesity by SL exhibited low physical performance, VO_{2max} and final
1452 workload of compared to NL animals after long-term moderate exercise training even though
1453 training was started during the early phase of life (infancy and adolescence). The results
1454 presented in this current work suggest that exercised obese programmed rats, in perinatal life,
1455 are resistant to improving their physical performance, although metabolic dysfunctions are
1456 ameliorated. Taking the DOHaD concept into account, the data from our experiments indicate
1457 that training should be initiated early, i.e., perinatal life, pregnancy and/or lactation, which are
1458 programming windows that may be more sensitive to exercise than infancy and adolescence. In
1459 addition, our data may also indicate that once programmed, obesity onset is difficult to
1460 deprogram. Alternatively, increasing intensity and/or frequency during exercise training could
1461 increase the physical performance of programmed obese rats. More results are needed to
1462 establish the latency, frequency, intensity and quantity of exercise needed, and when training
1463 should be started, to better improve the physical performance of young individuals who are
1464 programmed to obesity and who are at high risk of developing cardiometabolic diseases later in
1465 life.

1466

1467

1468

1469

1470 **ferences**

1471

1472 Achten, J., M. Gleeson and A. E. Jeukendrup (2002). "Determination of the exercise
1473 intensity that elicits maximal fat oxidation." Med Sci Sports Exerc **34**(1): 92-97.

1474 Achten, J. and A. E. Jeukendrup (2003). "Maximal fat oxidation during exercise in
1475 trained men." Int J Sports Med **24**(8): 603-608.

1476 Akalan, C., L. Kravitz and R. R. Robergs (2004). "VO₂max: Essentials of the most
1477 widely used test in exercise physiology." Acsms Health & Fitness Journal **8**(3): 5-9.

1478 Araneda, O. F., R. Urbina-Stagno, M. Tuesta, D. Haichelis, M. Alvear, M. P. Salazar and
1479 C. Garcia (2013). "Increase of pro-oxidants with no evidence of lipid peroxidation in
1480 exhaled breath condensate after a 10-km race in non-athletes." J Physiol Biochem.

1481 Bassett, D. R., Jr. and E. T. Howley (2000). "Limiting factors for maximum oxygen
1482 uptake and determinants of endurance performance." Med Sci Sports Exerc **32**(1): 70-
1483 84.

1484 Beneke, R., R. M. Leithauser and O. Ochentel (2011). "Blood lactate diagnostics in
1485 exercise testing and training." Int J Sports Physiol Perform **6**(1): 8-24.

1486 Bexfield, N. A., A. C. Parcell, W. B. Nelson, K. M. Foote and G. W. Mack (2009).
1487 "Adaptations to high-intensity intermittent exercise in rodents." J Appl Physiol **107**(3):
1488 749-754.

1489 Billat, V., J. C. Renoux, J. Pinoteau, B. Petit and J. P. Koralsztein (1994).
1490 "Reproducibility of running time to exhaustion at VO₂max in subelite runners." Med Sci
1491 Sports Exerc **26**(2): 254-257.

1492 Bouchard, C., A. Tremblay, A. Nadeau, J. Dussault, J. P. Despres, G. Theriault, P. J.
1493 Lupien, O. Serresse, M. R. Boulay and G. Fournier (1990). "Long-term exercise training
1494 with constant energy intake. 1: Effect on body composition and selected metabolic
1495 variables." Int J Obes **14**(1): 57-73.

1496 Boyadjiev, N. (1996). "Increase of aerobic capacity by submaximal training and high-fat
1497 diets." Folia Med (Plovdiv) **38**(1): 49-59.

1498 Castagna, C., V. Manzi, S. D'Ottavio, G. Annino, E. Padua and D. Bishop (2007).
1499 "Relation between maximal aerobic power and the ability to repeat sprints in young
1500 basketball players." J Strength Cond Res **21**(4): 1172-1176.

1501 Coyle, E. F. (1995). "Substrate utilization during exercise in active people." Am J Clin
1502 Nutr **61**(4 Suppl): 968S-979S.

1503 Dantas, E. M., E. B. Pimentel, C. P. Goncalves, W. Lunz, S. L. Rodrigues and J. G. Mill
1504 (2010). "Effects of chronic treadmill training on body mass gain and visceral fat
1505 accumulation in overfed rats." Braz J Med Biol Res **43**(5): 515-521.

1506 de Almeida, D. L., G. S. Fabricio, A. B. Trombini, A. Pavanello, L. P. Tofolo, T. A. da
1507 Silva Ribeiro, P. C. de Freitas Mathias and K. Palma-Rigo (2013). "Early Overfeed-
1508 Induced Obesity Leads to Brown Adipose Tissue Hypoactivity in Rats." Cell Physiol
1509 Biochem **32**(6): 1621-1630.

1510 de Azevedo, P. H. S. M., C. G. S. d. Araújo;, F. Caputo; and V. M. d. Reis. (2010).
1511 "Biomotricity roundtable - maximum oxygen consumption." Brazilian Journal of
1512 Biomotricity **4**(1): 3-13.

1513 de Oliveira, J. C., P. C. Lisboa, E. G. de Moura, L. F. Barella, R. A. Miranda, A. Malta, C.
1514 C. Franco, T. A. Ribeiro, R. Torrezan, C. Gravena and P. C. Mathias (2013). "Poor
1515 pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in

- 1516 pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation." J
 1517 Endocrinol **216**(2): 195-206.
- 1518 Enes, C. C. and B. Slater (2010). "[Obesity in adolescence and its main determinants]."
 1519 Rev Bras Epidemiol **13**(1): 163-171.
- 1520 Ferreira, J. C., N. P. Rolim, J. B. Bartholomeu, C. A. Gobatto, E. Kokubun and P. C.
 1521 Brum (2007). "Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training."
 1522 Clin Exp Pharmacol Physiol **34**(8): 760-765.
- 1523 Hansen, D., P. Dendale, R. A. Jonkers, M. Beelen, R. J. Manders, L. Corluy, A. Mullens,
 1524 J. Berger, R. Meeusen and L. J. van Loon (2009). "Continuous low- to moderate-
 1525 intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training
 1526 at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients." Diabetologia **52**(9): 1789-
 1527 1797.
- 1528 Houmard, J. A., C. J. Tanner, C. A. Slentz, B. D. Duscha, J. S. McCartney and W. E.
 1529 Kraus (2004). "Effect of the volume and intensity of exercise training on insulin
 1530 sensitivity." J Appl Physiol (1985) **96**(1): 101-106.
- 1531 Kemi, O. J., J. P. Loennechen, U. Wisloff and O. Ellingsen (2002). "Intensity-controlled
 1532 treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy." J Appl Physiol
 1533 **93**(4): 1301-1309.
- 1534 Kraegen, E. W., L. H. Storlien, A. B. Jenkins and D. E. James (1989). "Chronic exercise
 1535 compensates for insulin resistance induced by a high-fat diet in rats." Am J Physiol
 1536 **256**(2 Pt 1): E242-249.
- 1537 Liu, S., J. Goodman, R. Nolan, S. Lacombe and S. G. Thomas (2012). "Blood pressure
 1538 responses to acute and chronic exercise are related in prehypertension." Med Sci Sports
 1539 Exerc **44**(9): 1644-1652.
- 1540 Murias, J. M., A. Dey, O. A. Campos, M. Estaki, K. E. Hall, C. W. Melling and E. G.
 1541 Noble (2013). "High-intensity endurance training results in faster vessel-specific rate of
 1542 vasorelaxation in type 1 diabetic rats." PLoS One **8**(3): e59678.
- 1543 Negrao, C. E., E. D. Moreira, M. C. Santos, V. M. Farah and E. M. Krieger (1992).
 1544 "Vagal function impairment after exercise training." J Appl Physiol **72**(5): 1749-1753.
- 1545 Nyholm, B., M. F. Nielsen, K. Kristensen, S. Nielsen, T. Ostergard, S. B. Pedersen, T.
 1546 Christiansen, B. Richelsen, M. D. Jensen and O. Schmitz (2004). "Evidence of
 1547 increased visceral obesity and reduced physical fitness in healthy insulin-resistant first-
 1548 degree relatives of type 2 diabetic patients." Eur J Endocrinol **150**(2): 207-214.
- 1549 O'Neill, H. M. (2013). "AMPK and Exercise: Glucose Uptake and Insulin Sensitivity."
 1550 Diabetes Metab J **37**(1): 1-21.
- 1551 Plagemann, A., T. Harder, A. Rake, M. Voits, H. Fink, W. Rohde and G. Dorner (1999).
 1552 "Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic
 1553 galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed
 1554 rats." Brain Res **836**(1-2): 146-155.
- 1555 Pratley, R. E., J. M. Hagberg, D. R. Dengel, E. M. Rogus, D. C. Muller and A. P.
 1556 Goldberg (2000). "Aerobic exercise training-induced reductions in abdominal fat and
 1557 glucose-stimulated insulin responses in middle-aged and older men." J Am Geriatr Soc
 1558 **48**(9): 1055-1061.
- 1559 Rodrigues, A. L., E. P. De Souza, S. V. Da Silva, D. S. Rodrigues, A. B. Nascimento, C.
 1560 Barja-Fidalgo and M. S. De Freitas (2007). "Low expression of insulin signaling
 1561 molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition." J Endocrinol
 1562 **195**(3): 485-494.

- 1563 Rodrigues, B., D. M. Figueroa, C. T. Mostarda, M. V. Heeren, M. C. Irigoyen and K. De
1564 Angelis (2007). "Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and
1565 oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats." Cardiovasc Diabetol
1566 **6**: 38.
- 1567 Romijn, J. A., E. F. Coyle, L. S. Sidossis, X. J. Zhang and R. R. Wolfe (1995).
1568 "Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous
1569 exercise." J Appl Physiol **79**(6): 1939-1945.
- 1570 Rowland, T. W. (2007). "Evolution of maximal oxygen uptake in children." Med Sport Sci
1571 **50**: 200-209.
- 1572 Saltin, B. and J. A. Calbet (2006). "Point: in health and in a normoxic environment, VO₂
1573 max is limited primarily by cardiac output and locomotor muscle blood flow." J Appl
1574 Physiol (1985) **100**(2): 744-745.
- 1575 Scomparin, D. X., S. Grassioli, R. M. Gomes, R. Torrezan, J. C. de Oliveira, C.
1576 Gravena, C. C. Pera and P. C. Mathias (2011). "Low-Intensity swimming training after
1577 weaning improves glucose and lipid homeostasis in MSG hypothalamic obese mice."
1578 Endocr Res **36**(2): 83-90.
- 1579 Shaw, K., H. Gennat, P. O'Rourke and C. Del Mar (2006). "Exercise for overweight or
1580 obesity." Cochrane Database Syst Rev(4): CD003817.
- 1581 Sung, K. and S. Bae (2012). "Effects of a regular walking exercise program on
1582 behavioral and biochemical aspects in elderly people with type II diabetes." Nurs Health
1583 Sci **14**(4): 438-445.
- 1584 Wang, J., C. Chen and R. Y. Wang (2008). "Influence of short- and long-term treadmill
1585 exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of
1586 obese rats." Endocrine **33**(1): 77-83.
- 1587 Weston, K. S., U. Wisloff and J. S. Coombes (2013). "High-intensity interval training in
1588 patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-
1589 analysis." Br J Sports Med.
- 1590 Yano, H. and N. Nagao (1995). "Decline in maximal oxygen uptake on work
1591 performance in rats during the developmental phase." Jpn J Physiol **45**(5): 889-893.
1592
- 1593
- 1594
- 1595
- 1596
- 1597
- 1598
- 1599
- 1600

1601 **Table**1602 **Table 01 – Effect of exercise on BW and fat deposit**

Biometric parameters	Sedentary		Exercised				
	NL	SL	NL	SL	L	E	I
BW 60 days old (g)	287.9 ± 5.2	303.9 ± 6.7	258.5 ± 5.1	276.3±5.7	++	+++	ns
BW 90 days old (g)	387.5 ± 11.6	402.6 ± 9.2	346.0 ± 7.6	382.8±5.1	++	+++	ns
Retroperitoneal fat (g/100gBW)	1.1 ± 0.08	1.6 ± 0.06	0.84 ± 0.07	0.99±0.07	+++	++	+

1603

1604 Values are the mean ± SEM (n= 12 rats per group BW and n= 9 rats per group

1605 Retroperitoneal fat). +*P*<0.05; ++*P*<0.01; +++*P*<0.001. BW: body weight; NL: normal

1606 litter; SL: small litter; L: factor litter; E: exercise factor; I: interaction factor.

1607

1608

1609

1610

1611

1612

1613

1614

1615

1616

1617

1618

1619

1620

1621

1622

1623

1624 **Legend figures**

1625

1626 **Figure 01 - Moderate and low frequency exercise protocol and days of life**
1627 **corresponding to the effort test** Ordinal numbers indicates the days of life; EFFORT
1628 TEST: day when test was performed; %: percentage of VO_{2max} utilized in session
1629 training.

1630 **Figure 02 - Effect of exercise on ivGTT** (n=09 per group) *** $P<0.001$; statistical
1631 significance of differences between NL and SL, ### $P<0.001$; statistical significance of
1632 exercise versus sedentary treatment for probability based on Tukey multiple
1633 comparisons test. + $P<0.05$; ++ $P<0.01$; +++ $P<0.001$ for the probability based on
1634 ANOVA. NL SED: normal litter sedentary; SL SED: small litter sedentary; NL EXE:
1635 normal litter exercised; SL EXE: small litter exercised; L: effect of litter; E: effect of
1636 exercise; I: interaction between litter and exercise.

1637 **Figure 03 – Effects of exercise on relative values of VO_{2max}** (n=06per group); *** $P<$
1638 0.001 statistical significance of differences between NL and SL; ### $P<0.001$ statistical
1639 significance of exercise versus sedentary treatment for probability based on Tukey
1640 multiple comparisons test. + $P<0.05$; ++ $P<0.01$; +++ $P<0.001$ for the probability based
1641 on ANOVA. NL: normal litter; SL: small litter; SED: sedentary; EXE: exercised; L: effect
1642 of litter; E: effect of exercise; I: interaction between litter and exercise.

1643 **Figure 04 – Effects of exercise on absolute values of final work load (fWL)** (n=12
1644 per group) *** $P<0.001$; statistical significance of differences between NL and SL; ###
1645 $P< 0.001$; statistical significance of exercise versus sedentary treatment for probability
1646 based on Tukey multiple comparisons test. + $P<0.05$; ++ $P<0.01$; +++ $P<0.001$ for the
1647 probability based on ANOVA. NL: normal litter; SL: small litter; SED: sedentary; EXE:

1648 exercised; L: effect of litter; E: effect of exercise; I: interaction between litter and

1649 exercise.

1650

1651

1652

1653

1654

1655

1656

1657

1658

1659

1660

1661

1662

1663

1664

1665

1666

1667

1668

1669

1670

1671

1672

1673

1674

1675

1676

1677

1678

1679

1680

1681

1682

1683

1684

1685

1686

1687

1688

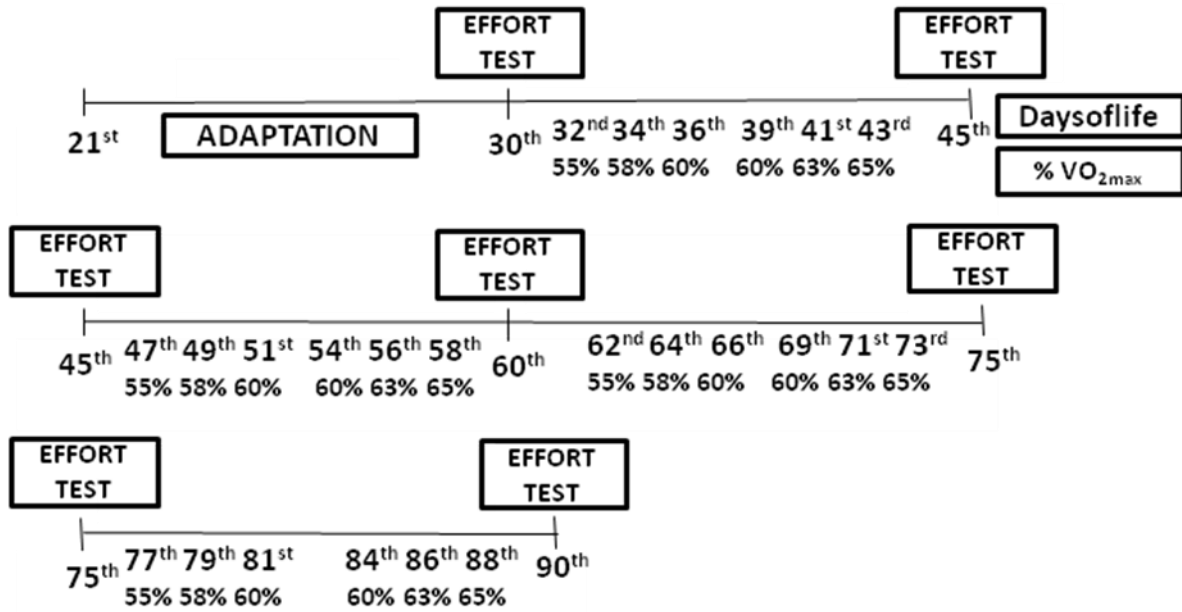
1689

1690

1691

1692

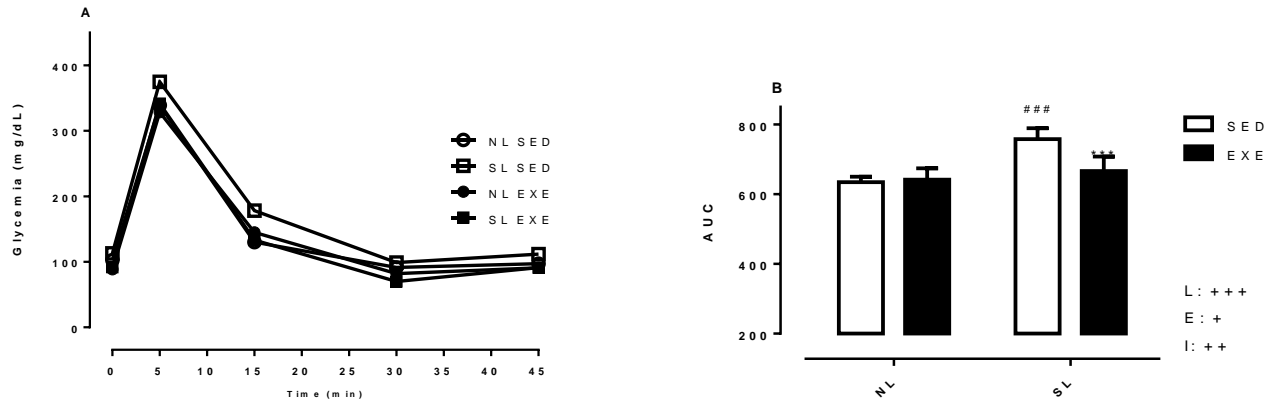
1693 **Figures**
1694
1695 **Figure 01**



1696
1697
1698
1699
1700
1701
1702
1703
1704
1705
1706
1707
1708
1709
1710
1711
1712
1713
1714
1715
1716
1717
1718
1719
1720
1721
1722

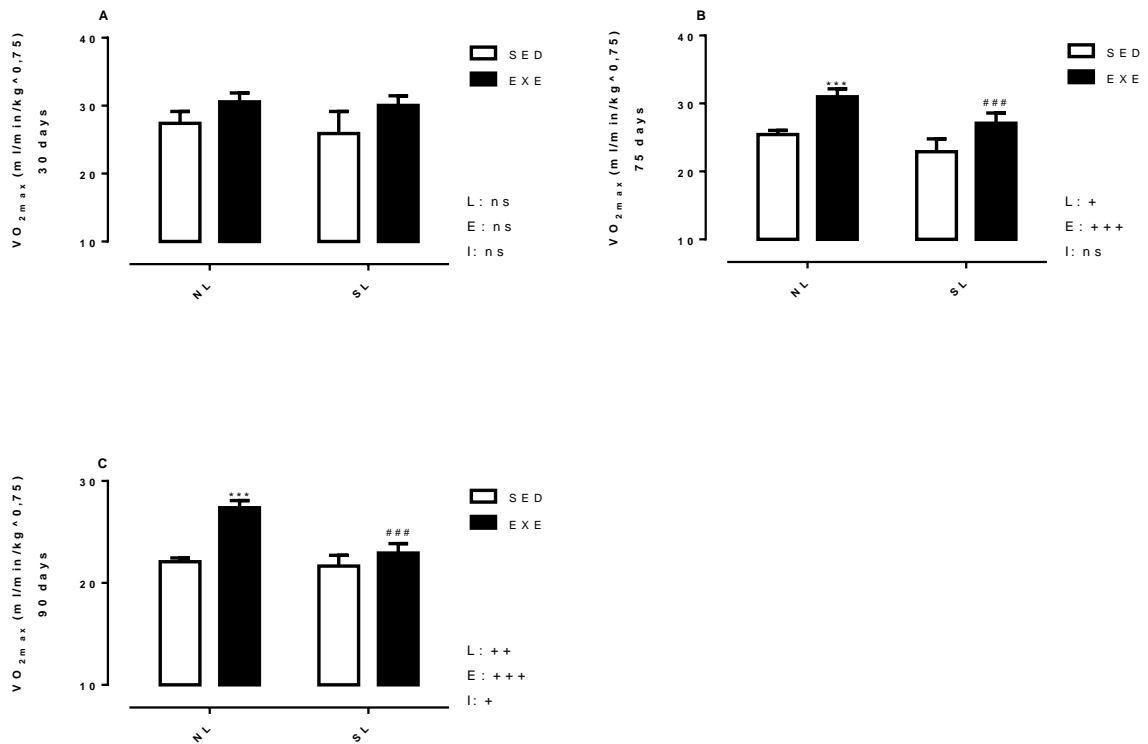
1723
1724
1725

Figure 02



1726
1727
1728

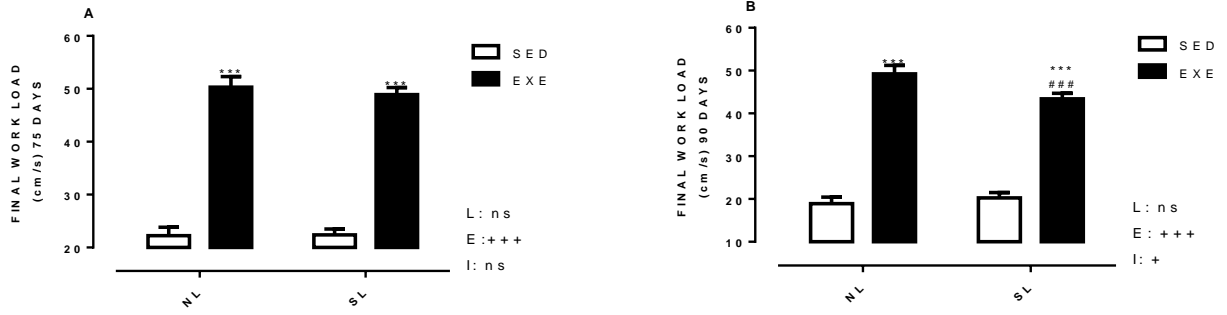
Figure 03



1729
1730

1731
1732
1733

1734 **Figure 04**



1735
1736
1737
1738
1739