

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

PAULO VITOR DA SILVA ROMERO

**TREINAMENTO AERÓBIO NOS GENITORES
REDUZ ADIPOSIDADE DA PROLE**

MARINGÁ
2015

PAULO VITOR DA SILVA ROMERO

**TREINAMENTO AERÓBIO NOS GENITORES
REDUZ ADIPOSIDADE DA PROLE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Associado em Educação Física UEM/UEL, nível *Stricto Sensu* como requisito para obtenção do título de mestre em Educação Física – Área de Desempenho Humano e Atividade Física – linha Ajustes e Respostas Fisiológicas e Metabólicas ao Exercício Físico.

Orientador: Prof. Dr. Sidney Barnabé Peres
Coorientador(a): Prof^a Dra. Solange Marta Franzói de Moraes

MARINGÁ
2015

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

R763t Romero, Paulo Vitor da Silva
Treinamento aeróbico nos genitores reduz adiposidade da prole / Paulo Vitor da Silva Romero. -- Maringá, 2015.
64 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Sidney Barnabé Peres.
Co-orientador: Prof^a Dr^a Solange Marta Franzói de Moraes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Educação Física, Programa Associado de Pós-Graduação em Educação Física UEM/UEL, 2015.

1. Epigenética. 2. Treinamento físico. 3. Desenvolvimento pós-natal. 4. Tecido adiposo. I. Peres, Sidney Barnabé, orient. II. Moraes, Solange Marta Franzói de, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Educação Física. Programa Associado de Pós-Graduação em Educação Física UEM/UEL. IV. Título.

CDD 21.ed. 796.077

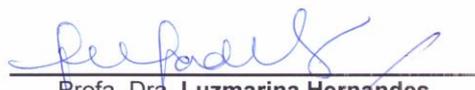
AHS-002821

PAULO VITOR DA SILVA ROMERO

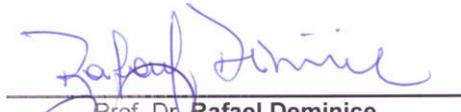
**TREINAMENTO AERÓBIO NOS
GENITORES REDUZ ADIPOSIDADE DA
PROLE**

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.

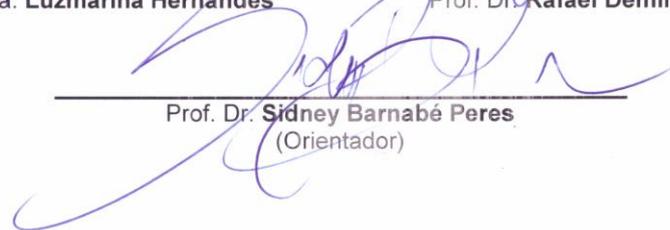
APROVADA em 26 de junho de 2015.



Profa. Dra. Luzmarina Hernandez



Prof. Dr. Rafael Deminice



Prof. Dr. Sidney Barnabé Peres
(Orientador)

Dedicatória

Em primeiro lugar a Deus, incentivador incondicional da minha vida e minha querida mãe, responsável por tudo que sou, merecedora de todos os aplausos, amor incondicional, carinho perpétuo, a eles meu imenso amor.

Agradecimentos

A banca, professora Luzmarina e professor Rafael, pela disponibilidade em me atender prontamente e por todas as correções no intuito de melhorar meu conhecimento.

Aos animais utilizados nos experimentos, fundamentais para o desenvolvimento da ciência.

Minha família, grande família, a começar pela minha mãe, e terminando com meus irmãos de grupo Renascer, por estarem comigo a todo momento, em especial, Vinaum, Poms, Rafa, Titi, Maciel, Wedson, Fran, Chev, Ferzinha, Helinho, Rô, Ruy e todos que fazem parte da família Renascer.

Aos meus colegas de trabalho, os que acompanham de perto os estudos e pesquisas no laboratório de fisiologia, Markinhos, Diego, Bruno, Silvia, Carol, Gustavo, Nayra, Camila, Letícia, Iohana, Eloá, Ceci, Danilo, Chicão, Paulo, professoras Fabiana, Montserrah, Forta que mesmo sendo de outro laboratório sempre esteve presente, e em especial as que me auxiliaram na pesquisa, Meire e Patrícia.

As minhas mães, preta e branca, por tanto tempo juntos, risadas, brigas, trabalho e muita descontração, com vocês trabalhar é divertido. Marcinha, a mãe loira, pelos ensinamentos, dona Lourdes, sempre com o sorriso no rosto independente do que aconteça.

A minha coorientadora, porém minha orientadora durante 8 anos, poço de doçura e sabedoria, sabendo sempre a melhor forma de ensinar, professora Solange e atualmente meu querido orientador “Sidão flannigan's”, agradeço ao conhecimento repassado sempre quando solicitei, pelas cobranças, mas principalmente por ser um grande amigo, acima de ser meu professor, obrigado por mostrar que ser professor é uma profissão, que dependendo da forma de como tratada, pode ser a melhor do mundo.

Aos meus irmãos “paulistas”, grande Horse, João Victor, por ceder um pedaço de sua casa, laboratório 112, para estudarmos e aumentar nosso conhecimento por meio das pesquisas realizadas lá e por toda a sua “delicadeza” ao ensinar. E a minha querida irmã e companheira acadêmica e da vida em geral, “Maymala” Andrade, os momentos em que passamos juntos, sejam eles no laboratório ou não, foram muito importantes para mim, obrigado por estar sempre comigo.

E por último, e claro, mais especial, minha amiga, companheira, e ainda sim namorada, Francielli Rocha, quase dois anos de muita cumplicidade, amor, carinho, atenção, broncas, brigas, mas acima de tudo, crescimento. Espero que essa companhia prossiga por todos os momentos de nossas vidas, TE AMO.

ROMERO, Paulo Vitor da Silva. 2015. **Treinamento aeróbio nos genitores reduz adiposidade da prole**. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

RESUMO

O crescimento e desenvolvimento dos animais pode ser afetado de diversas formas. Estudos têm buscado evidências que apontam para contribuições ambientais, genéticas e perinatais como justificativa a essas mudanças. Os genitores desempenham papel biológico fundamental no desenvolvimento e programação metabólica de sua prole. O treinamento físico é outro estímulo ambiental capaz de afetar diversos sistemas em todo o corpo, sendo capaz de induzir modificações geracionais. Desta forma, o objetivo do trabalho foi determinar o efeito do treinamento físico sistematizado nos genitores sobre o desenvolvimento da adiposidade da prole. Foram utilizados 32 camundongos que foram separados de acordo com o sexo (16 machos e 16 fêmeas), subdivididos em 4 grupos: Machos Sedentários, Machos Treinados, Fêmeas Sedentárias e Fêmeas Treinadas, com oito animais em cada. Sendo os grupos treinados submetidos a um protocolo de treinamento aeróbio em esteira rolante com duração de 7 semanas (1 semana de adaptação, 6 semanas de treinamento). Terminado o protocolo, ocorreu o acasalamento e consequente prenhez das fêmeas. Após o nascimento os seguintes grupos foram constituídos: S (Filhotes de Pais Sedentários), T (Filhotes de Pais Treinados), ST (Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas) e TS (Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias). Completados 21 dias de vida os filhotes foram eutanasiados para coleta de sangue e tecidos adiposos brancos e marrom. Amostras dos tecidos mesentérico e inguinal foram utilizados para realização da técnica de isolamento dos adipócitos, colocadas em tampão digestivo e em seguida fragmentadas com tesoura fina e incubadas. Após a digestão, a amostra foi filtrada e lavada. Após a terceira lavagem, a suspensão celular foi colocada em lâmina histológica e 50 imagens capturadas por animal em microscópio óptico. Posteriormente o diâmetro médio dos adipócitos foi determinado através da mensuração aleatória de 100 adipócitos por animal. Amostras de tecido adiposo marrom foram fixadas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos semi seriados de 3 μ m de espessura, para coloração com Hematoxilina e Eosina (H.E.), para análise da morfologia geral do tecido. Parte do tecido adiposo foi usado para a determinação da expressão protéica de aP2 por *Western Blotting*. Após análise dos dados observamos que houve diferença significativa entre o peso do coxim de gordura mesentérica nos filhotes fêmeas e no índice de Lee nos filhotes machos, nesses dois parâmetros os filhotes do grupo T obtiveram valores menores em relação aos demais grupos. Na quantificação do diâmetro do tecido adiposo mesentérico e inguinal, houve diferença do grupo T que apresentou média inferior em relação aos demais em ambos os sexos ($p < 0,05$). Na análise da expressão protéica da aP2 o grupo S, o qual os pais se mantiveram sedentários, mostrou uma maior expressão em relação aos demais grupos, tanto nas fêmeas como nos machos. Assim, concluímos que o treinamento físico dos genitores foi eficaz na redução da adiposidade da prole, diâmetro dos adipócitos e inclusão lipídica.

Palavras-chave: Epigenética; Treinamento Físico; Desenvolvimento pós-natal; Tecido Adiposo.

ROMERO, Paulo Vitor da Silva. 2015. **Aerobic training performed by genitors reduces offspring adiposity**. Dissertation (Master in Physical Education) – Center of Health Sciences. State University of Maringá, Maringá, 2015.

ABSTRACT

The growth and development of animals is affected in several ways. Studies have sought evidences pointing to environmental, genetic and perinatal contributions as justification to these changes. The parents play a fundamental biological role in developing and metabolic programming of their offspring. Physical training is another environmental stimulus, which affect multiple systems throughout the body, being able to induce generational changes. Thus, the objective of the present study was to determine the effect of physical training performed by parents on the development of offspring adiposity. 32 mice were used, distributed according to sex (16 males and 16 females) and divided into 4 groups: sedentary males, trained males, sedentary females, and trained females, eight animals per group. The trained groups have undergone an aerobic training protocol on treadmill lasting seven weeks (1 week of adaptation, 6 weeks of training). Afterwards the protocol, mating and subsequent pregnancy in females occurred. After birth the following groups were formed: S (Parents), T (Offspring from Trained Parents), ST (Offspring from Sedentary Father and Trained Mother) and TS (Offspring from Trained Father and Sedentary Mother). Following 21 days the offspring was euthanized and blood and white and brown adipose tissues harvested and processed. Samples of mesenteric and inguinal tissue were used to obtain isolated adipocytes by the collagenase method. The cell suspension was placed on slides and 50 histological images captured in an optical microscope. Subsequently, the average diameter of the adipocytes was determined by randomly measuring 100 adipocytes per animal. Brown adipose tissue samples were fixed, dehydrated, cleared and embedded in paraffin to perform histological semi series cuts of 3 mm thick, for staining with hematoxylin and eosin (HE) for analysis of the general morphology of the tissue. After analyzing the data, it was denoted that there was a significant difference between the weight of mesenteric fat pad in young females and Lee index in male offspring; also consistently observed on T pup group when compared to the other groups ($p < 0.05$). Regarding the diameter of mesenteric and inguinal adipose tissue adipocytes, T group showed an average diameter lower than the others in both sexes ($p < 0.05$). The analysis aP2 protein expression in S group presented a higher expression in relation to other groups, both in females as in males. Thus, we conclude that physical training performed by parents was effective to reduce adiposity of their offspring.

Key words: Epigenetic; Exercise; Offspring; Adipose Tissue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental dos animais de acordo com o acasalamento dos diferentes grupos.....	28
Figura 2A - Evolução do peso (g) corporal dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	33
Figura 2B - Evolução do peso (g) corporal dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	33
Figura 2C - Área sob a curva de crescimento dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	33
Figura 2D - Área sob a curva de crescimento dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	33
Figura 2E - Delta da evolução de peso (g) dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados.....	33
Figura 2F - Delta da evolução de peso (g) dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	33
Figura 3A - Consumo de ração (g) dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	34
Figura 3B - Consumo de ração (g) dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	34
Figura 3C - Área sob a curva do consumo de ração total dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	35
Figura 3D - Área sob a curva do consumo de ração total dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	35
Figura 3E - Consumo total de ração (g) dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	35
Figura 3F - Consumo total de ração (g) dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	35
Figura 4A - Velocidade (km/h) máxima alcançada durante o teste incremental (V_{Pico}) nos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	36

Figura 4B - Velocidade máxima (km/h) alcançada durante o teste incremental (V_{Pico}) nos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	36
Figura 4C - Delta da velocidade (km/h) máxima alcançada no teste incremental (V_{Pico}) dos grupos genitores Machos Sedentários (MS) e Machos Treinados (MT).....	36
Figura 4D - Delta da velocidade (km/h) máxima alcançada no teste incremental (V_{Pico}) dos grupos genitores Fêmeas Sedentárias (FS) e Fêmeas Treinadas (FT).....	36
Figura 5A - Diâmetro do tecido adiposo branco mesentérico nos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	44
Figura 5B - Diâmetro do tecido adiposo branco subcutâneo nos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	44
Figura 6A - Diâmetro (μm) do tecido adiposo branco mesentérico nas filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	44
Figura 6B - Diâmetro (μm) do tecido adiposo branco subcutâneo nas filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	44
Figura 7A - Expressão proteica de aP2 no tecido adiposo subcutâneo nos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	47
Figura 7B - Expressão proteica de aP2 no tecido adiposo subcutâneo nos filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de	

Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	47
Figura 7C – <i>Blot</i> representativo da quantificação das proteínas aP2 e tubulina (<i>loading control</i>) por imunoenensaio no tecido adiposo subcutâneo nos filhotes machos e fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	47
Figura 8A – Determinação de inclusões lipídicas no tecido adiposo marrom nos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	48
Figura 8B - Determinação de inclusões lipídicas no tecido adiposo marrom nas filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Peso dos filhotes machos (g), comprimento naso-anal (cm), índice de Lee, peso dos tecidos adiposos retroperitoneal, subcutâneo, mesentérico, marrom, uterina/ovariana (g), soma das gorduras viscerais e das gorduras brancas (g), dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	38
Tabela 2 Peso das filhotes fêmeas (g), comprimento naso-anal (cm), índice de Lee, peso dos tecidos adiposos retroperitoneal, subcutâneo, mesentérico, marrom, uterina/ovariana (g), soma das gorduras viscerais e das gorduras brancas (g), dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	40
Tabela 3 Perfil glicídico e lipídico dos filhotes machos (ml/dl) dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	41
Tabela 4 Perfil plasmático das filhotes fêmeas (ml/dl) dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm	Micrômetro
ABCG1	ATP-binding Cassette Sub-family G Member 1
aP2	<i>Adipocyte Protein 2</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
C/EBPα	<i>CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha</i>
cm	Centímetro
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FS	Fêmeas Sedentárias
FT	Fêmeas Treinadas
g	Gramma
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HEPES	<i>4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic Acid</i>
IL-6	<i>Interleukin 6</i>
Km/h	Quilômetros por Hora
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
mg/dl	Miligramas por Decilitros
MS	Machos Sedentários
MT	Machos Treinados
PPARγ	<i>Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
S	Filhotes de Pais Sedentários
ST	Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas
T	Filhotes de Pais Treinados
TNFα	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TS	Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
VO₂Máx	Consumo Máximo de Oxigênio
V_{pico}	Velocidade Máxima Alcançada em Teste de Esforço

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Justificativa.....	16
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Tecido adiposo e epigenética.....	19
3.2 Exercício e epigenética.....	22
4 METODOLOGIA.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 Parâmetros analisados nos genitores.....	32
5.1.1 Evolução de peso, consumo de alimento e capacidade física.....	32
5.2 Parâmetros analisados na prole.....	37
5.2.1 Peso corporal, comprimento naso-anal, índice de Lee, peso dos coxins, perfil glicídico e lipídico, diâmetro dos adipócitos subcutâneo e mesentérico, quantificação da proteína aP2 e inclusões lipídicas no adipócito marrom de filhotes machos e fêmeas.....	37
6 CONCLUSÃO.....	50
7 REFERÊNCIAS	51
8 ANEXOS.....	63

1 INTRODUÇÃO

Diversas são as condições em que perturbações podem afetar o desenvolvimento e crescimento dos animais. Estudos tem buscado evidências que apontam para contribuições ambientais, genéticas e perinatais como justificativa a essas mudanças. Devido às diferenças no estilo de vida e a dificuldade em controlar essas variáveis nos seres humanos, os modelos animais são de fundamental importância para entender essas modificações (KRAL, *et al.*, 2006; RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976). Sendo assim, a epigenética surge como uma possibilidade de compreender melhor possíveis modificações na expressão de genes existentes, e consequente alterações no metabolismo, ou seja, o estudo das influências onde ocorrem alterações hereditárias do mesmo sem mudanças na sequência de DNA (WOLFFE; GUSCHIN, 2000).

Os genitores desempenham papel biológico fundamental no desenvolvimento e programação metabólica de sua prole (POWER *et al.*, 2003). A associação entre gene-ambiente pode ser predominante para o desenvolvimento do tecido adiposo, sendo projetado ainda na fase intrauterina. Ambientes parentais inadequados podem também afetar o fenótipo da prole, podendo assim contribuir para o rápido aumento da gordura corporal (BOUCHARD, 2009).

O treinamento físico é um estímulo ambiental que pode afetar diversos sistemas em todo o corpo, sendo capaz de induzir modificações geracionais. O exercício durante a gravidez parece ter efeitos benéficos na mãe e no feto, influenciando no peso corporal de ambos (KALISIAK; SPITZNAGLE, 2009), reduzindo sobretudo o percentual de tecido adiposo branco (CLAPP, 2013).

Manipulações dietéticas durante a gestação e lactação ocasionam uma grande variação total no peso corporal e adiposidade entre linhagens puras de ratos (*inbred*) (ENRIORI *et al.*, 2007; KOZA *et al.*, 2006). A desnutrição materna pode levar a excesso de peso na prole em roedores e humanos, porém a supranutrição (*overnutrition*) é um problema mais comum no mundo desenvolvido. A alta ingestão alimentos ricos em lipídeos durante gestação e lactação também resulta em obesidade da prole (OZANNE *et al.*, 2004; GUO; JONES; FRIEDMAN, 1982). Porém, as origens do desenvolvimento do tecido adiposo, os determinantes de sua

distribuição, e os mecanismos de sinalização do controle de sua expansão permanecem mal definidos (SANCHEZ-GURMACHES; GUERTIN, 2014).

Notavelmente, alterações epigenéticas no DNA são marcadas no genoma de um modo que por vezes pode ser herdada pelas gerações futuras. A juventude é marcada por grandes alterações metabólicas no organismo. Intervenções por meio de atividades físicas e a alimentação nesta fase podem ter efeitos predominantes para o resto da vida, prevenindo assim um possível desenvolvimento indesejado. Porém, a respeito dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia do tecido adiposo, ainda não é possível a total compreensão de como o exercício físico pode modular essas respostas. Desta forma, o objetivo do trabalho foi determinar o efeito do treinamento físico sistematizado nos genitores sobre o desenvolvimento da adiposidade da prole.

1.1 Justificativa

A grande maioria das pesquisas realizadas nas últimas 5 décadas sobre o tecido adiposo se justificam pela crescente preocupação com a obesidade e os mecanismos envolvidos na sua origem, suas consequências e possíveis formas de tratamento. Em função deste cenário há o interesse sobre os mecanismos envolvidos na formação do tecido adiposo e as diversas influências genéticas e epigenéticas moduladoras de sua gênese.

Com respeito à prática de exercício físico, o conhecimento atual sobre seus efeitos se baseia principalmente nos efeitos do treinamento físico aeróbio, especialmente utilizando o tecido adiposo branco, que tem como uma de suas funções básicas o acúmulo de energia na forma de gordura. Porém, ainda não se sabe a importância da transmissão dos parâmetros de treinamento para a prole de genitores praticantes de atividade física sistematizada.

Em trabalhos recentes (ANDRADE, 2014; ESTEVES, 2012) conduzidos por nosso grupo junto ao Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM) mostramos que a administração de dieta hipercalórica/hiperlipídica (dieta tipo cafeteria) às mães durante a gestação promoveu aumento na adiposidade de sua prole. Diante disso e somado ao pequeno número de trabalhos realizados relacionando o papel dos pais, ambiente, e sua prole, surge o interesse de realizar um estudo que exponha a influência que o exercício físico sistematizado possa transmitir e determinar a adiposidade de sua prole.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar o efeito do treinamento físico sistematizado dos genitores sobre a adiposidade da prole.

2.2 Objetivos específicos

Nos genitores caracterizar as adaptações impostas pelo treinamento físico aeróbio sistematizado:

- Determinar o consumo alimentar;
- Determinar o peso corporal;
- Avaliar a V_{pico} dos animais treinados e sedentários ao início e no final do protocolo de treinamento.

Nos filhotes machos e fêmeas de 21 dias:

- Determinar o peso dos coxins de gordura branca visceral (mesentérico e inguinal), subcutânea (inguinal) e marrom (interescapular);
- Avaliar o diâmetro de adipócitos isolados dos tecidos adiposos brancos citados no item anterior;
- Determinar a área da gotícula lipídica contida no adipócito do tecido adiposo marrom;
- Avaliar o perfil glicêmico e lipídico;

- Quantificar a expressão gênica do marcador adipogênico aP2 no tecido adiposo subcutâneo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Tecido adiposo e epigenética

O início do século XX foi marcado pelo avanço na descoberta de novas doenças e isso foi predominante na tentativa de propor manobras no seu combate, tendo como principal objetivo amenizar o número de mortes (FABRICIO, 2014). O tecido adiposo era visto por muito tempo como apenas o principal reservatório energético do corpo, sendo esta energia armazenada na forma de substrato, o triacilglicerol; porém essa afirmação não é mais válida. Em 1987 este paradigma foi superado devido a sua importância no metabolismo de esteroides sexuais (SIITERI, 1987), além da posterior descoberta da regulação na síntese e secreção de hormônios como a leptina e adiponectina, juntamente com uma gama diversificada de outras proteínas também advindas do tecido adiposo, assim reconhecido não só como um reservatório energético, mas um órgão endócrino (FRÜHBECK *et al.*, 2001; TRAYHURN; BEATTIE, 2001; MOHAMED-ALI; PINKNEY; COPPACK, 1998; ZHANG, 1994).

A função endócrina do tecido adiposo apresenta sua importância pelas consequências metabólicas por meio do excesso ou da deficiência de sua atividade. O acúmulo de gordura em diferentes depósitos pelo corpo está diretamente relacionado com fatores de risco a saúde dos indivíduos, sendo que, quando concentrada na parte abdominal aumenta a probabilidade em desenvolver doenças isquêmicas cardíacas e diabetes, quando comparados com indivíduos que apresentam essa concentração em regiões periféricas do corpo (HAUNER *et al.*, 1990). Tratamentos farmacológicos são utilizados para manutenção do peso corporal, controle da pressão, níveis de glicemia e colesterol, entre outros, porém, mantendo uma vida saudável com a prática regular de exercícios físicos, a intervenção medicamentosa pode ser diminuída, e em alguns casos, até cessada.

Por outro lado, a lipodistrofia, curiosamente também está atrelada a síndrome metabólica, além da mesma ser agravada em indivíduos que utilizando da terapia antirretroviral (GRUNDY, 2004; LEOW; ADDY; MANTZOROS, 2003). A perda de gordura generalizada ou parcial, quando localizada, causa hipertrofia de gordura em outros depósitos, levando a alterações graves, sendo elas, intolerância à glicose, diabetes, esteatose hepática, ovários policísticos, dislipidemias, complicações

cardiovasculares, entre outras. A responsabilidade por essa anomalia está atrelada à fatores genéticos, em menor número, e na maioria das vezes, adquirida por meio de fatores ambientais (FREITAS *et al.*, 2013). Portanto, o excesso ou a deficiência do tecido adiposo são responsáveis por alterações metabólicas prejudiciais à saúde, sendo um alerta a população e órgãos públicos.

O processo de adipogênese tem sido estudado e melhor caracterizado utilizando-se pré-adipócitos da linhagem celular 3T3-L1 (células oriundas de embriões de camundongos Suíços), e compreendem estágios precisamente controlados. Fatores de transcrição adipogênicos, incluindo o receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR γ), a proteína 1c ligadora do elemento regulado por esteróis (SREBP-1c) e as proteínas ligantes ao amplificador CCAAT (CCAAT/enhancer binding protein - C/EBPs) desempenham um papel chave na complexa cascata transcricional que ocorre durante a adipogênese. Embora, em estudos *in vitro*, o emprego de coquetéis estimulantes constituídos classicamente por insulina, dexametasona, metil-isobutil-xantina (MIX) e FBS (soro fetal bovino) sejam conhecidos como desencadeadores da adipogênese, pouco se sabe sobre os eventos que propiciam o seu desencadeamento *in vivo* (VERNOCHET *et al.*, 2009).

Embora os adipócitos tenham a capacidade de expressar e secretar diversos hormônios endócrinos, como a leptina e adiponectina, muitas proteínas secretadas são derivadas a partir da fração do tecido adiposo (FAIN *et al.*, 2004). Estes componentes trabalham de forma conjunta, assim sendo caracterizado como órgão. Podemos dividir a sua função em duas categorias, a primeira, onde proteínas secretadas apresentam efeitos em células ou tecidos periféricos, e a segunda, tendo as enzimas, envolvidas na produção e regulação de hormônios esteroides (FRAYN *et al.*, 2003). O tecido adiposo marrom em especial, exerce funções diferentes do tecido adiposo branco, responsável pela manutenção da temperatura corporal em animais e, em humanos nos recém-nascidos, observados sob uma ampla variedade de condições fisiológicas, explicáveis por meio de sua atividade termogênica. Além da termogênese, o adipócito marrom pode desempenhar um papel sistemicamente importante em outros aspectos, liberando proteínas que agem no controle da proliferação, diferenciação e apoptose celular (CANNON, 2003).

O desenvolvimento humano é influenciado por diversos fatores que agem isoladamente e conjuntamente, como o ambiente, o indivíduo e a tarefa, que influenciam o processo de desenvolvimento ao longo da vida (GALLAHUE; OZUMUN;

GOODWAY, 2013). O ambiente exerce papel dominante na gênese de distúrbios relacionados ao tecido adiposo, onde o maior acesso à alimentos de alto valor energético e de baixo custo, a crescente dependência de tecnologia e níveis insatisfatórios de atividade física, são alguns dos mais relevantes componentes da vida moderna.

Estudos mostram que a fase intrauterina é decisiva no desenvolvimento do tecido adiposo, podendo ser moldada nesse período. Mulheres responsáveis por um estilo de vida ativo tendem a ter uma gravidez com menos riscos, além de gerar filhos com peso considerado normal (DAVIES, 2003). Este exercício realizado no tempo correto é capaz de promover uma melhora no desenvolvimento cognitivo por meio de uma remodelação neural, além da regulação de outros centros, como de apetite, saciedade, estocagem e utilização de energia (DRAGANSKI; MAY, 2008). Essas alterações se dão a partir da interação gene-ambiente, sendo que alguns alelos associados podem ser adquiridos somente pelos pais e que exposições ambientais parentais são capazes de alterar o fenótipo da prole, sendo possível causa de doenças relacionadas ao excesso de gordura (BOUCHARD, 2009). A associação entre peso ao nascer e peso na fase adulta sugere que há efeitos duradouros sobre o risco de uma síndrome metabólica e ainda que a redução deste peso ao nascer minimiza tal risco (WHITAKER; DIETZ, 1998).

Embora vários genes tenham sido associados ao desenvolvimento do tecido adiposo, sua exclusiva influência não pode explicar a rápida e crescente prevalência de indivíduos sobre pesados. Entender como certos fatores modificam a expressão de um gene durante o desenvolvimento fetal pode ajudar a explicar esse rápido aumento. Assim, esse conhecimento nos dá suporte para entender o início desses processos ainda na infância (KYUNG, 2012). Power *et al.* (2003) apontam evidências sobre a importância do papel dos pais na programação metabólica de seus filhos e possíveis desenvolvimento de doenças envolvidas com a síndrome metabólica. O excesso de peso é capaz de afetar a motilidade e concentração de espermatozoides, além da morfologia dos testículos, o que pode estar associado a danos estruturais do DNA do esperma (KASTURI, 2008).

O excesso de peso nos pais é comprovadamente uma alteração que afeta o metabolismo de suas gerações, como observado em animais, herança essa podendo ser amenizada ou revertida com intervenções na alimentação e exercício físico (BOUCHARD, 2009). Porém, ainda são escassas as informações de como o

comportamento sedentário dos pais afeta espermatozoides, embrião e feto, e conseqüentemente é antagonista a isso a influência do exercício. Em humanos existem poucos estudos que mostram a contribuição do homem na epigenética de seus filhos, sendo que na maioria deles a importância é voltada para a mãe. Em roedores a evidência de que a produção de espermatozoides exerce influência sobre o desenvolvimento do embrião já é comprovada e isso posteriormente afetando o crescimento do feto no útero de sua genitora. Assim, a importância na identificação de alterações epigenéticas ajudam na compreensão de como a vida dos pais alteram o metabolismo de suas gerações, auxiliando na contribuição por meio de intervenções na tentativa de reverter possíveis danos (MCPHERSON, 2014).

3.2 Exercício e epigenética

Com respeito a prática de exercício físicos e seus benefícios, em especial o aeróbio, se baseia principalmente nos efeitos do treinamento sobre o metabolismo do tecido adiposo, essencialmente aquele denominado branco, que tem como função básica o acúmulo de energia na forma de gordura (BOUTCHER, 2011). Segundo Silva (1995), ele é capaz de influenciar diretamente a composição corporal, ou seja, possui um papel determinante no combate ao excesso de gordura corporal. A prática regular do exercício acentua a utilização dos ácidos graxos como substrato para a produção de ATP, contribuindo para a mobilização de gorduras principalmente localizadas no tecido adiposo branco além de, simultaneamente, favorecer a manutenção ou aumento de massa muscular. O treinamento físico leva ao aumento da densidade mitocondrial, e logo, da capacidade oxidativa muscular, podendo ser fator de proteção contra uma variedade de doenças crônicas (TSENG *et al.*, 1995).

Lemura e Maziekas (2002) realizaram um estudo onde concluíram que os exercícios de baixa intensidade e longa duração são mais eficientes para utilização de gordura como forma de energia. Os grandes grupos musculares são envolvidos em um ritmo constante e sua intensidade deve ser moderada. Porém, isso não significa que exercícios anaeróbicos não são eficientes para redução da gordura corporal. Sabia *et al.* (2004), a partir dos resultados obtidos em seu estudo, concluíram que o exercício anaeróbico é eficiente para melhora da composição corporal, além de oferecer uma melhora cardiorrespiratória e nas medidas bioquímicas dos indivíduos estudados. “A intensidade do exercício físico é fator primordial para melhor aquisição de resultados, tanto de condicionamento físico, quanto visando aumento de massa

muscular e perda de massa gorda” (FERNANDEZ *et al.*, 2004). Os autores ainda concluem que seja qual for o tipo de exercício, aeróbico ou anaeróbico, a intensidade deve sempre ser crescente, pelo fato do indivíduo submetido ao treinamento com foco na perda de peso geralmente ser sedentário ou destreinado, e por isso não é capaz de realizar a atividade na intensidade que irá lhe render maiores resultados desde o começo do tratamento.

Bem caracterizados, os fatores benéficos do exercício físico contribuem para uma melhora na saúde metabólica. A homeostase da glicose e oxidação de gordura também são melhorados com o treinamento físico (FLUCK, 2006; HOPPELER; FLUCK, 2003). Por outro lado, a falta de exercício ou sedentarismo é associado ao desenvolvimento de doenças crônicas e todas as causas de mortalidade (MOKDAD *et al.*, 2004). Um ponto de extrema relevância está no fato de que ele não influencia somente no tratamento de comorbidades advindas do tecido adiposo, mas também possui uma relação de transmissão de informação genética e interferência na adiposidade de sua prole.

Neste contexto surge a epigenética, ou seja, o estudo das influências ambientais na expressão do gene onde ocorrem alterações hereditárias do mesmo sem mudanças na sequência de DNA (WOLFFE; GUSCHIN, 2000). Em geral, existem três tipos de efeitos transmissíveis específicos dos pais: 1) aqueles decorrentes de regulação epigenética da expressão gênica, 2) os decorrentes dos efeitos do ambiente intrauterino materno sobre o feto em desenvolvimento, e 3) os decorrentes de variação genética no genoma mitocondrial herdados maternalmente (GUO *et al.*, 2006). O estudo da influência genética sobre a morfologia corporal e distúrbios metabólicos associados é de extrema importância para o conhecimento desta inter-relação.

As alterações metabólicas não são claramente explicadas e compreendidas por fenômenos epigenéticos em seres humanos e animais, porém os pesquisadores reconhecem cada vez mais um papel protagonista no crescimento e desenvolvimento humano e sua relação com o desencadeamento de doenças. Notavelmente, os alvos de modificações podem variar a partir de grandes segmentos de cromossomos a genes individuais.

Na tentativa de reverter possíveis danos causados por uma programação metabólica ruim, o exercício físico tem papel fundamental, sendo uma importante ferramenta modeladora do metabolismo (SUNG; BAE, 2012). O mesmo merece destaque pelo fato que ele não influencia somente na alteração da gordura corporal,

mas também possui uma relação de transmissão de informação genética e interferência na adiposidade de sua prole. Há indícios de que os pais podem iniciar essa transmissão atrelada com doenças metabólicas, provocadas direta ou indiretamente, por meio de um estilo de vida sedentário e alimentação com alto teor de gordura (BOUCHARD, 2009).

Trabalhos recentes têm associado o grau de atividade física a maior metilação genômica (REN *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2011; NAKAJIMA *et al.*, 2010). Por exemplo, o exercício físico induz incremento da metilação de sequências genômicas conhecidas como LINE-1 (*transposable elements*) em linfócitos. A baixa metilação em LINE-1 tem sido associada ao aumento da resposta inflamatória, bem como instabilidade cromossômica. Rönn *et al.* (2013) realizaram recentemente um estudo onde destacam as características da dinâmica de metilação do DNA. Estes autores conduziram análise de todo o genoma relacionado com o tecido adiposo humano antes e após o exercício. Após uma intervenção de 6 meses de exercício físico, realizados por 23 homens saudáveis, com baixo nível anterior de atividade física, concluíram que o exercício induz uma ampla metilação do DNA e consequente modulação de genes ligados ao metabolismo.

Wojtyla *et al.* (2012) sugerem que o estilo de vida das mães é refletido nos filhos sendo responsável por eventos futuros. Mães que tiveram durante toda a vida uma rotina permeada de atividades físicas, inclusive no período de gestação, influenciaram positivamente o desenvolvimento de seus filhos. Por outro lado, aquelas que sempre apresentaram um estilo sedentário, além do provável excesso de pesos de seus filhos, as mesmas podem desenvolver um quadro de resistência insulínica durante a gestação (ARTAL, 2003; COMMITTEE, 2003). Os efeitos maléficos do aumento do tecido adiposo nas mães já estão bem estabelecidos na literatura, tendo o poder de afetar o ovócito e interferir no estabelecimento da gravidez (VELEVA *et al.*, 2008; PINBORG *et al.*, 2001).

Outro foco de estudos nos dias atuais é a interferência do sedentarismo e posterior excesso de peso paterno no desenvolvimento de seus filhos, podendo haver alterações nos gametas e tendo seu desfecho na gestação (BAKOS *et al.*, 2011; KELTZ *et al.*, 2010). Nguyen e Ramlau *et al.* (2007) apontam que homens sobrepesados possuem uma dificuldade maior no tempo de concepção de seus filhos quando comparados com casais que são classificados com o peso normal. O excesso de gordura nos homens está relacionado com baixas taxas de gravidez nas mulheres

e dificuldades na mesma, podendo ser explicado pela dificuldade na fertilização que apresentam reduzidas, alterações nos espermatozoides, além do desenvolvimento prejudicado dos blastocistos (BINDER *et al.*, 2012; BAKOS *et al.*, 2011; ZHAO *et al.*, 2011; KELTZ *et al.*, 2010).

Recentemente, foi estabelecido que o exercício e a restrição calórica além de reduzir a adiposidade, melhora a função sexual. Um estudo em humanos examinou 43 homens, que foram colocados em um programa de 14 semanas de dieta e exercício para perda de peso e demonstram a melhora da contagem total de espermatozoides e motilidade naqueles homens que perderam o maior peso (HAKONSEN *et al.*, 2011). Além disso, as intervenções da dieta e exercício em um modelo de ratos machos mostrou recentemente que a função do espermatozoide foi altamente correlacionada com a normalização da glicemia, colesterol, triglicérides, ácidos graxos livres no soro e insulina, associada a restauração da motilidade espermática, morfologia, estresse oxidativo, dano ao DNA e de ligação (PALMER *et al.*, 2012).

Assim, estratégias de perda de peso são promissoras na restauração da qualidade funcional do espermatozoide em homens acima do peso e roedores submetidos a dietas obesogênicas. O uso de modelos animais nos permite controlar as variáveis críticas para avaliar as interações importantes entre herança genética, fatores perinatais, bem como o desenvolvimento das vias neurais que controlam a regulação da homeostase energética. Agora há boas evidências de que tais intervenções podem ter efeitos duradouros sobre o desenvolvimento, estrutura e função das vias neurais envolvidas na regulação do gasto energético.

4 METODOLOGIA

Animais

Neste estudo utilizamos 32 camundongos (16 machos e 16 fêmeas) da linhagem *Swiss* (com 23 dias de vida) obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais permaneceram no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas, com temperatura constante de 23°C e fotoperíodo controlado automaticamente (12 horas claro/12 horas escuro) com livre acesso à água e ração balanceada (Nuvital®) com composição seguindo as recomendações do *National Research Council e National Institute of Health-USA* para alimentos de roedores de laboratório. O controle do consumo diário de líquidos e ração foi feito semanalmente. Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pelo Comissão de Ética no Uso de Animais, parecer nº 141/2013.

Treinamento Físico dos Genitores

Os mesmos 32 camundongos (machos e fêmeas) com 23 dias de vida foram subdivididos em quatro grupos, Macho Sedentário (MS), Macho Treinado (MT), Fêmea Sedentária (FS) e Fêmea Treinada (FT), compostos por oito animais cada. O treinamento físico aeróbio foi realizado em esteira rolante ergométrica programável adaptada para acomodar oito camundongos simultaneamente. Inicialmente foi executada uma semana de adaptação ao exercício proposto, com a velocidade oscilando entre 0,8 e 1,1 km/h e duração de trinta a quarenta minutos por sessão. Após a semana de adaptação todos os animais foram submetidos ao teste de esforço máximo. Aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias de vidas os animais dos grupos treinados realizaram um teste de esforço para determinação da V_{pico} e posterior reajuste de carga, utilizando esteira individual própria para roedores *Panlab®* (Barcelona, Espanha). O teste consistiu em um aquecimento de 5 minutos na intensidade de 10cm/s, com 0° de inclinação com aumento de 9 cm/s a cada 3 minutos até a exaustão do animal. Na semana seguinte iniciou-se o protocolo de treinamento aeróbio nos grupos Macho Treinado (MT) e Fêmea Treinada (FT), executado em esteira rolante Inbrasports (Porto Alegre, Brasil) estabelecido por Iwamoto *et al.* (2004) e adaptado (Anexo B), que consistiu de cinco sessões semanais de exercício com velocidade a 75% da máxima e duração crescente até que os animais executassem a atividade por

uma hora, caracterizando-a como predominantemente aeróbia de alta intensidade. Ao final do período de treinamento, todos os animais foram submetidos ao teste de esforço, assim como no início, para comparação entre os grupos sedentários e treinados.

Acasalamento

Após a realização do protocolo de treinamento de 7 semanas (1 de adaptação e 6 de treinamento), os animais machos sedentários e treinados foram alocados em caixas com as fêmeas para cruzamento, numa proporção de 1 macho para cada fêmea. Diariamente foi determinado o ciclo estral dos camundongos fêmeas, por meio de esfregaço vaginal, até detectado a presença de espermatozoides no material coletado, considerando assim o primeiro dia de prenhez. Após o término do protocolo de seis semanas, o treinamento se manteve com duração e intensidade constantes conforme teste de esforço realizado para prescrição da sexta semana de treino e só cessou quando se detectou a prenhez das fêmeas. As fêmeas prenhes foram separadas e alimentadas com ração balanceada durante período de gestação e lactação. Após o nascimento, durante o período de lactação as ninhadas foram padronizadas para 8 animais, quando possível com 4 fêmeas e 4 machos, minimizando a possível interferência de maior disponibilidade de leite. Ao final os filhotes foram organizados 4 grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários de Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS), sendo que machos e fêmeas foram analisados separadamente.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

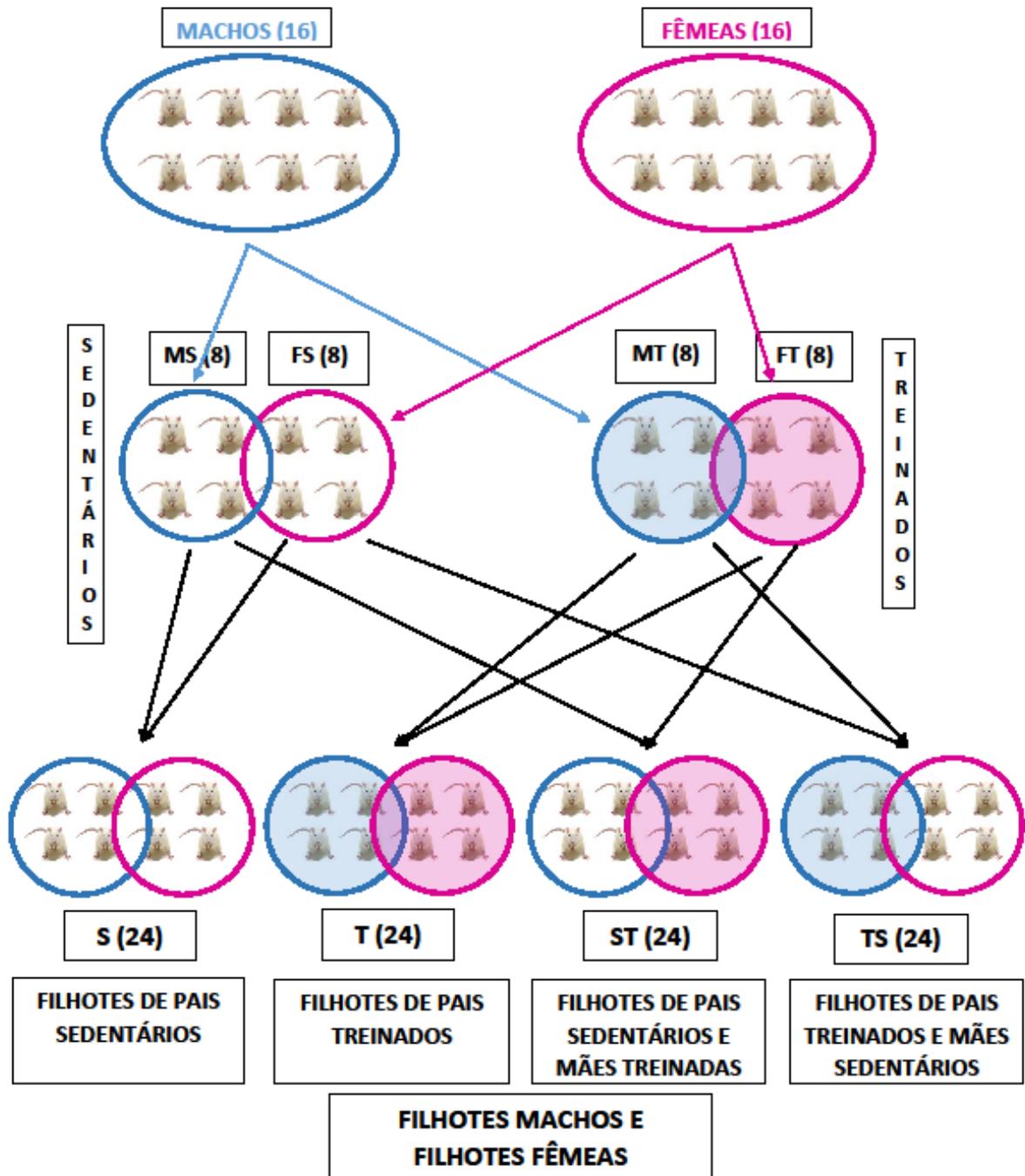


Figura 1. Delineamento experimental dos animais de acordo com o acasalamento dos diferentes grupos.

Eutanásia dos grupos genitores e prole

Assim que os filhotes completaram 21 dias, foram anestesiados com administração de ketamina (5,8 mg/100g) e xilazina (1,15 mg/100g) (0,1 ml para cada 100g de peso corporal, via intraperitoneal). Em seguida efetuou-se a punção cardíaca para coleta de sangue e posterior laparotomia mediana para coleta dos tecidos. Posteriormente os animais foram submetidos à eutanásia por meio de secção do músculo diafragma e parada cardiorrespiratória.

Foram coletados os tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, epididimal e ovariano/uterino (todos viscerais), inguinal (subcutâneo) e marrom (interescapular), imediatamente clampeados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80 °C. As genitoras foram eutanaziadas logo após o período de amamentação e os genitores logo após constatação da prenhez.

Análises Bioquímicas

Amostras de sangue retiradas durante a punção cardíaca foram imediatamente centrifugadas para obtenção do plasma no qual foram efetuadas as seguintes dosagens bioquímicas utilizando-se *kits* comerciais (Gold Analisa, Brasil): colesterol total, triglicerídeos, VLDL e glicose.

Isolamento dos adipócitos

Amostras dos tecidos adiposos mesentérico e inguinal foram utilizados para realização da técnica de isolamento dos adipócitos (modificado de RODBELL, 1964). Amostras de tecido adiposo de cada animal foram colocadas em 1 ml de tampão digestivo (DMEM / HEPES 25 mM, soro albumina bovina fração V (BSA) a 4%, colagenase II 1,25 mg/ml, pH 7,4 a 37°C). Em seguida as amostras foram fragmentadas com tesoura fina e incubadas por 30 minutos (37° C) sob agitação constante (150 rpm em banho-maria de agitação orbital). Após a digestão, a amostra foi filtrada e lavada três vezes com 25 ml de tampão HEPES 20 mM contendo BSA a 1%, piruvato de sódio 1 mM, sem glicose, pH 7,4 e mantido a 37° C em tampão EARLE/HEPES/BSA. Após a terceira lavagem, a suspensão celular foi colocada em lâmina histológica e foram capturadas 50 imagens por animal em microscópio óptico Nikon Eclipse E100 (Tokio, Japão), com ampliação de 100x. Posteriormente o

diâmetro médio dos adipócitos foi determinado através da mensuração aleatória de 100 adipócitos por animal, por meio de um sistema de análise de imagem (*Image-Pro Plus 4.5 – Media Cybernetics®*).

Análise histológica do tecido adiposo marrom

Amostras de tecido adiposo marrom foram fixadas em *Carnoy*, desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos semi-seriados de 3 µm de espessura corados com Hematoxilina e Eosina (H.E.), para análise da morfologia geral do tecido. As imagens do tecido foram capturadas em objetiva de 40x *Nikon Eclipse E110*, para a análise da área ocupada pelas gotículas no adipócito, foi utilizado o programa *Image Pro-Plus4.1®*. Para estimar o percentual de inclusões lipídicas presentes no tecido foi realizada captura de 50 imagens por animal em áreas com maior e menor intensidade de cor utilizando objetiva de 40x. Foi utilizado o microscópio óptico *Olympus BX41®* com câmera *Olympus Q-Color®3*, acoplado a um microcomputador com programa computacional *Q-Capture®*. As análises morfométricas foram realizadas com auxílio do programa *Image Pró-Plus®4.5*.

Estudos de expressão protéica (*Immuno blotting*)

As proteínas totais do tecido adiposo subcutâneo foram extraídas após homogeneização das amostras em tampão de *Western* para lise que consiste dos seguintes reagentes: 25 mM Tris HCl, pH = 7,4; 50 mM NaCl; deoxicolato de sódio 0,5%; Nonidet P-40 2%; SDS 2%; 1 mM fenilmetilsulfonil fluoreto (PMSF); 1 mM ortovanadato de sódio; 50 µM leupeptina e 5 µM aprotinina. As amostras foram incubadas em gelo por 15 min e centrifugadas por 15 min 15.000 RPM a 4°C. O conteúdo proteico de cada sobrenadante foi quantificado em triplicata pelo método BCA (Thermo Scientific, EUA). A seguir, 20 µg de proteína foram separados por eletroforese após fervura das amostras (misturadas em *reducing protein sample buffer* 4x: 200 mM Tris pH 7,8; 8% SDS; 0,4% de azul de bromofenol; 40% de glicerol; 400 mM de DTT) por 5-10 min. Posteriormente, as amostras foram aplicadas em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de 15%, e as proteínas transferidas para uma membrana de PVDF em voltagem fixa de 20 V *overnight*. As membranas foram incubadas em solução bloqueadora (*non-fat dry milk* 5% em TBST) por uma hora, lavadas três vezes em TBST (TBS + 0,1% Tween 20) e incubadas *overnight* a 4° C com o anticorpo

primário contra aP2 (FABP4) diluídos em TBST 2% BSA. Amostras adicionais de tecido foram incubadas com anticorpo anti-tubulina e usadas como *loading control*. A seguir, as membranas foram novamente lavadas em TBST e incubadas com os respectivos anticorpos secundários *anti-rabbit* diluídos em TBST 5% *non-fat dry milk* (conjugados com peroxidase) por 1 hora em temperatura ambiente, seguidas de tratamento com reagentes de quimioluminescência para visualização das proteínas em fotodocumentador eletrônico (C-DiGit® Blot Scanner, Li-COR, Inc. Lincoln, NE, EUA). Os resultados foram representados como média e desvio padrão percentuais obtidos após análise densitométrica dos *blots*.

Estatística

Neste estudo foi utilizado o teste ANOVA one-way quando assumida a homogeneidade dos dados, e o teste Kruskal-Wallis quando negada a semelhança. Como a distribuição de t depende do tamanho da amostra (n), o valor de t pode ser usado para estimar o n de tal forma que se obtenha uma estimativa da média da amostra para uma dada confiança. O nível de confiança adotado foi de 99,5%, com erro máximo admitido de 0,5% para mais ou para menos.

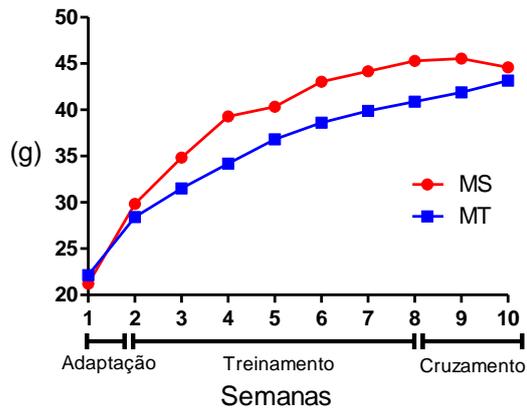
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros analisados nos genitores

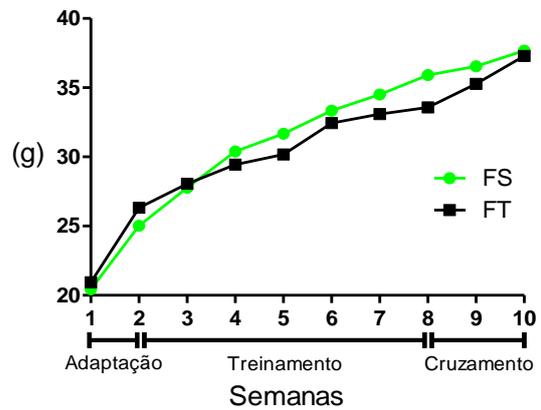
5.1.1 Evolução de peso, consumo de alimento e capacidade física

As figuras 2A e B mostram os gráficos de evolução de peso dos animais sedentários e treinados, machos e fêmeas respectivamente, durante as nove semanas antes de serem colocados para cruzamento. A representação da curva de crescimento como área sob a curva mostra de forma mais evidente a diferença entre os grupos experimentais (Figuras 2C e D), onde ocorreu aumento significativo de 9,27% na área sob a curva de crescimento nos machos sedentários comparado com o grupo treinado como mostra a figura 2B. As figuras 2D e E mostram o delta da evolução de peso, onde somente é considerado o ganho de peso durante o tempo que os animais se mantiveram em experimentação. Os grupos treinados apresentaram uma média inferior aos grupos sedentários no ganho de peso nos dois sexos (machos: 20,82 - 25,97; fêmeas: 16,73 - 20,30), porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Nota-se por meio da figura 1A que a evolução de peso nos grupos sedentários ocorreu de uma forma mais célere em relação aos treinados, fato esse que pode ser explicado pela influência do exercício físico aeróbico sobre o metabolismo do tecido adiposo do animal. Braga *et al.* (2006) em seu estudo demonstrou uma diminuição no peso corporal e no percentual de gordura em ratos obesos inseridos em um programa de treinamento aeróbico. O exercício tinha duração de 45 minutos de natação com sobrecarga de 5% do peso corporal do animal e frequência de 5 vezes na semana com duração total de 12 semanas. Assim o exercício aeróbico mostrou ser eficaz na redução da adiposidade ao longo das semanas de treinamento, onde o sedentarismo de um grupo, aliado ao treinamento do outro mostrou diferenças no ganho de massa corporea, em especial nos animais machos.

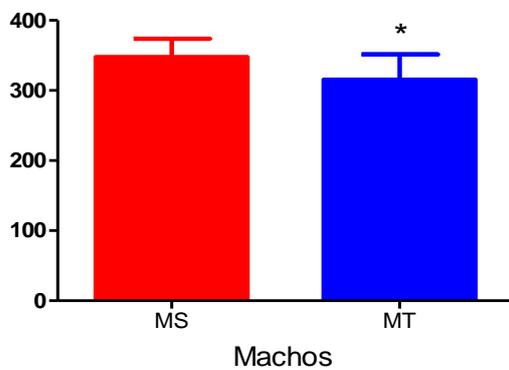
2. (A) Evolução Peso Corporal - Machos



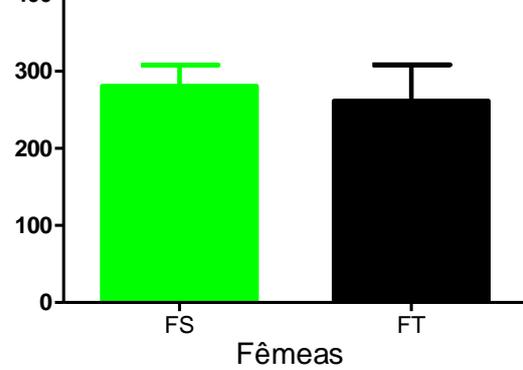
(B) Evolução Peso Corporal - Fêmeas



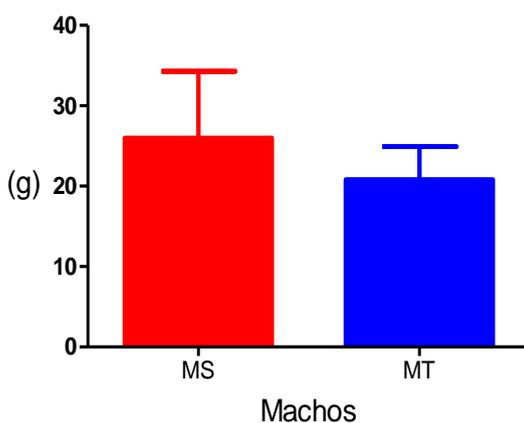
(C) Evolução Peso Corporal - Área Sob a Curva



(D) Evolução Peso Corporal - Área Sob a Curva



(E) Delta Evolução de Peso - Machos



(F) Delta Evolução de Peso - Fêmeas

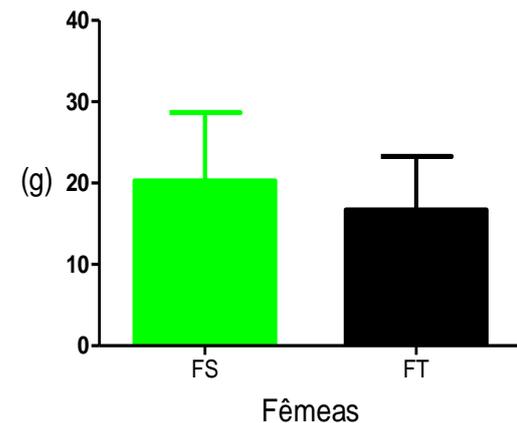
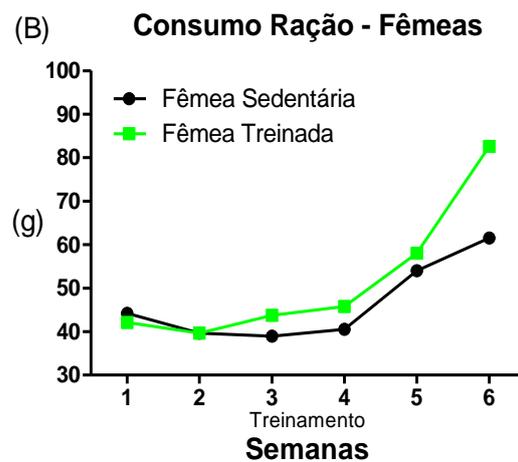
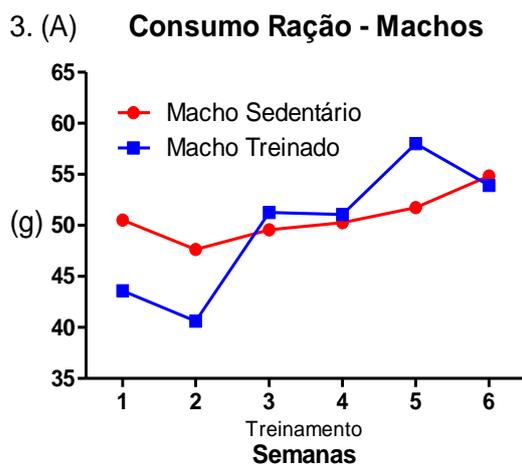


Figura 2. (A) Evolução do peso corporal dos grupos genitores Macho Sedentário (MS) e Macho Treinado (MT), (B) Fêmea Sedentária (FS) e Fêmea Treinada (FT) durante 6 semanas de treinamento até o tempo médio de acasalamento. (C, D) Área sob a curva de crescimento dos grupos experimentais, obtida a partir das curvas em A e B. (E, F) Delta da evolução de peso dos animais até a constatação da prenhez das fêmeas. Valores expressos em média \pm desvio padrão; * = $p < 0,05$.

As figuras 3A e B mostram o consumo de alimento dos grupos macho sedentário e macho treinado, fêmea sedentária e fêmea treinada, durante todo o período experimental, juntamente com as figuras 3C e D que apresentam os valores da área sob a curva que não mostrou diferença entre os grupos analisados. As figuras 3E e F demonstram que o consumo total de ração foi muito parecido na comparação feita entre animais do mesmo sexo, não havendo diferença estatística. Assim, o treinamento de 7 semanas não mostrou eficiência em alterar os consumos de ração dos grupos treinado e sedentário, ao contrário dos estudos realizados por Andrade (2014) e Esteves (2012) que utilizaram um tipo de dieta de cafeteria, composta por alimentos ricos em gordura e altamente palatáveis, apontando em seus resultados uma diferença significativa entre os grupos, aumentando o consumo no grupo dos animais não treinados.



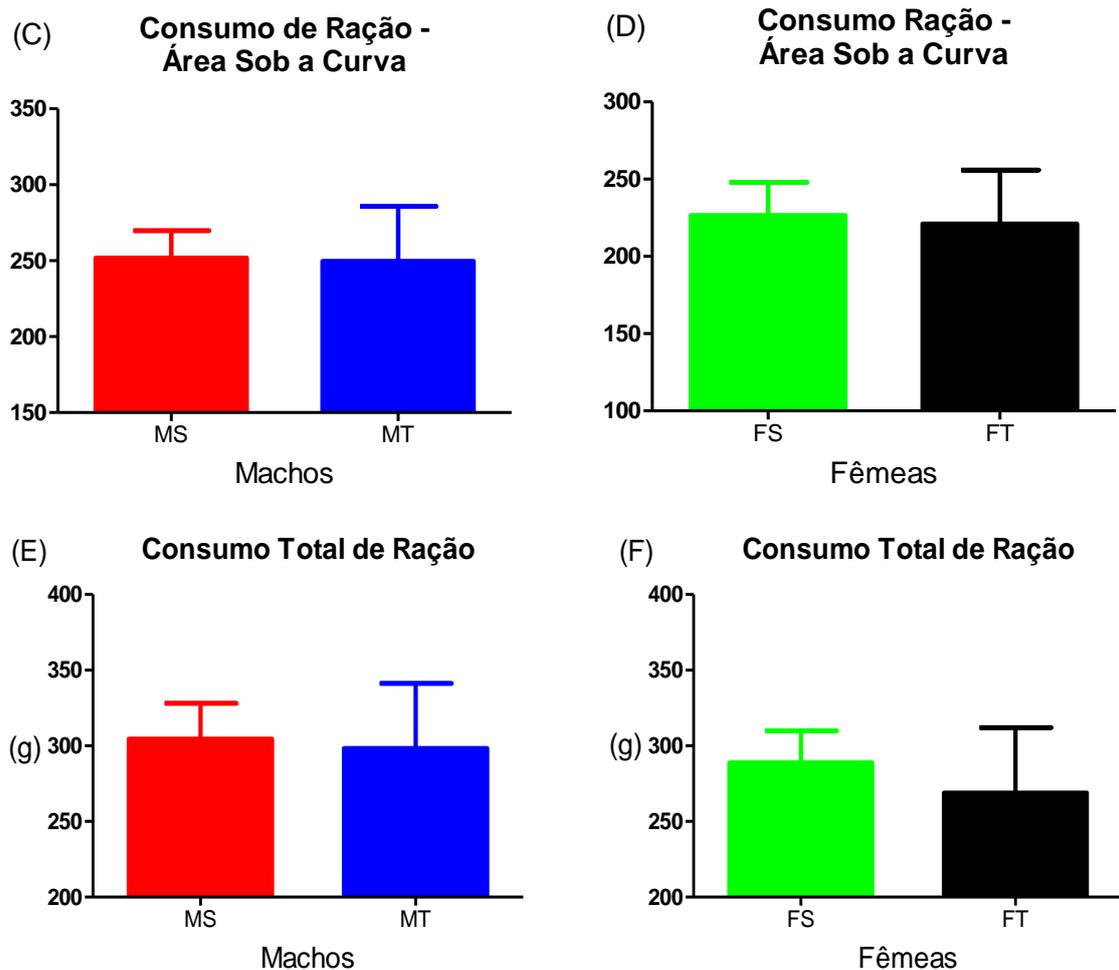


Figura 3. (A) Consumo de alimento dos grupos genitores Macho Sedentário (MS) e Macho Treinado (MT), (B) Fêmea Sedentária (FS) e Fêmea Treinada (FT) desde o início até o final das 6 semanas de treinamento. (C, D) Área sob a curva do consumo de ração total do período experimental. (E, F) Consumo total de ração ao final de 6 semanas. Valores expressos em média \pm desvio padrão; * = $p < 0,05$.

As figuras 4A e B apresentam os resultados da velocidade máxima alcançada durante o teste incremental (V_{Pico}) dos grupos sedentário e treinado em ambos os sexos. O gráfico mostra que a média alcançada pelos grupos treinados (MT e FT) no início do período experimental quando comparadas com as do final das seis semanas de treinamento, apresentaram aumento considerável, sendo estatisticamente significativa para ambos os sexos. O grupo macho treinado apontou um aumento de 43,40% ao final das seis semanas, em relação ao sedentário. Nas fêmeas treinadas o aumento foi de 40,20% na comparação com as fêmeas sedentárias. A média alcançada pelos grupos mostrou que o treinamento aumentou significativamente a capacidade física dos animais do grupo treinado, onde o reajuste de carga semanal foi suficiente para que ao final das seis semanas de treinamento os

animais melhorassem sua velocidade máxima (V_{Pico}) consideravelmente. As figuras 4C e D mostram os resultados do delta da V_{Pico} , constatado um aumento nos grupos treinados em ambos os sexos e verificada diferença estatística em todas as variáveis do treinamento.

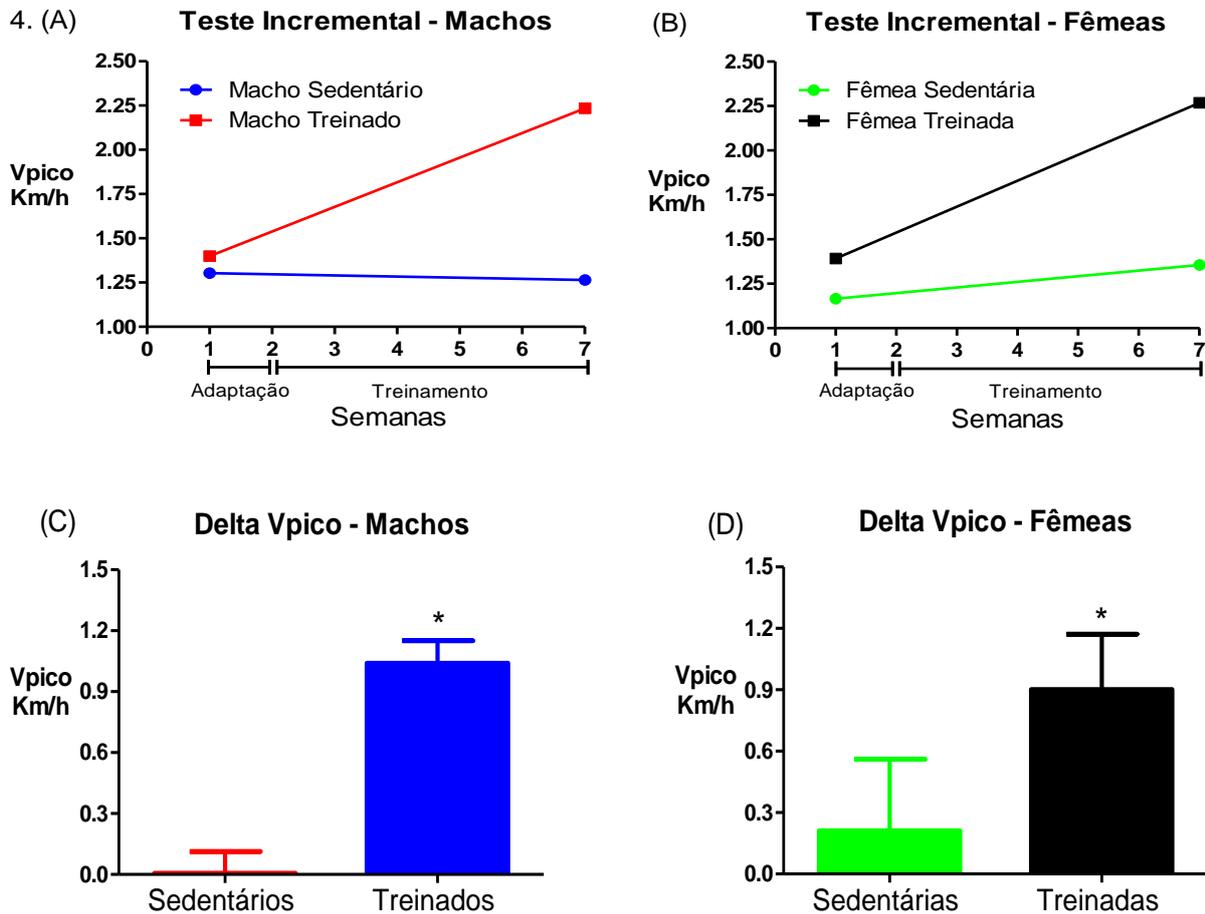


Figura 4. (A) Velocidade máxima alcançada durante o teste incremental (V_{Pico}) nos grupos Macho Sedentário (MS) e Macho Treinado (MT), (B) Fêmea Sedentária (FS) e Fêmea Treinada (FT) desde o início até o final das 6 semanas de treinamento. (C, D) Delta da velocidade máxima alcançada no teste incremental (V_{Pico}) durante o período de treinamento. Valores expressos em média \pm desvio padrão; * = $p < 0,05$.

Na prescrição de treinamentos específicos, a utilização do $VO_2 \text{ máx}$ como ferramenta na identificação das capacidades físicas é essencial na vida de atletas, treinadores e até de pessoas que utilizam o esporte como forma de diversão, sendo fundamental na determinação das cargas de treino. A partir desses limiares ventilatórios, as atividades físicas podem ser classificadas em leves, moderadas ou severas. As concentrações de lactato também servem de indicativo para a prescrição de treinamento, mas ao serem analisadas na corrente sanguínea, tornam-se invasivas

criando certas restrições, pois no caso de animais, o momento da coleta acaba levando os mesmos a um alto nível de estresse que pode influenciar nos valores obtidos e assim mascarar o estudo (BENEKE; LEITHAUSER; OCHENTEL, 2011; HUGHSON, 2009).

Assim, a velocidade máxima alcançada durante teste incremental (V_{pico}) se apresenta como opção para a prescrição de treinamentos. Essa utilização era vista como deficiente, pois estudos que correlacionaram a V_{pico} com valores de $VO_{2máx}$ e lactato não apresentaram semelhança entre elas (BERTHOIN *et al.*, 1996; HILL; ROWELL, 1996; LACOUR *et al.*, 1990; NOAKES *et al.*, 1990). Em um estudo mais recente, Silva (2014) avaliou 21 corredores experientes recreacionistas onde constatou uma correlação muito forte entre as mesmas variáveis, mostrando assim que a prescrição feita por meio da V_{pico} se identifica com valores de $VO_{2 máx}$, sendo um método de fácil acesso a todos.

5.2 Parâmetros analisados na prole

5.2.1 Peso corporal, comprimento naso-anal, índice de Lee, peso dos coxins, perfil glicídico e lipídico, diâmetro dos adipócitos subcutâneo e mesentérico, quantificação da proteína aP2 e inclusões lipídicas no adipócito marrom de filhotes machos e fêmeas de filhotes machos e fêmeas

A tabela 1 mostra parâmetros de caracterização da prole com 21 dias de idade. Foram avaliados o comprimento naso-anal, índice de Lee e peso dos diferentes depósitos de gordura, além da soma das gorduras viscerais e brancas dos machos nos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS). O comprimento naso-anal mostra que o grupo T foi maior que os grupos S e TS. O índice de Lee que reflete o índice de massa corpórea, parâmetro usado como marcador de sobrepeso e obesidade em humanos, mostrou diferença significativa do grupo T em relação aos demais grupos, indicando que o treinamento dos genitores pode ser eficaz para uma menor massa corpórea de sua prole.

No tecido adiposo branco, a única diferença encontrada foi na gordura epididimal, onde o grupo T apresentou valores menores significativamente quando comparado com o TS. Ainda com relação as gorduras, outra diferença encontrada foi

na variável soma das gorduras viscerais que é composta pelos coxins retroperitoneal, mesentérico e epididimal, no qual os grupos ST e TS foram maiores em relação ao T, evidenciando em mais essa variável os menores valores a esse grupo. Esses resultados mostram uma tendência na redução da adiposidade nos filhotes machos do grupo T em relação aos demais, mostrando que o treinamento de ambos os genitores foi responsável por alterar esses parâmetros.

Andrade (2014) observou em sua pesquisa, que de maneira geral, a adiposidade da prole de machos foi alterada pela prática de atividade física de intensidade moderada e dieta de cafeteria de suas mães. O aumento foi identificado em todos os coxins adiposos, exceto o marrom, quando tratadas com a dieta. Já o exercício, não foi capaz de reverter esse aumento nas genitoras alimentadas com a dieta.

Tabela 1 Peso (g) dos filhotes machos, comprimento (cm) naso-anal, índice de Lee (g/cm), peso (g) dos tecidos adiposos retroperitoneal, subcutâneo, mesentérico, marrom, uterina/ovariana, soma (g) das gorduras viscerais e das gorduras brancas, dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).

Grupos <i>Coluna</i>	S (n=13) <i>a</i>	T (n=13) <i>b</i>	ST (n=14) <i>c</i>	TS (n=16) <i>d</i>
Peso	14,732±1,529	13,996±0,949	15,019±1,474	14,818±1,383
C. Naso-Anal	7,138±0,226	7,400±0,168 ^{ad}	7,279±0,172	7,188±0,301
Índice de Lee	343,263±14,489	325,612±8,504 ^{acd}	338,822±13,638	341,684±10,295
Gordura Retroperitoneal	0,013±0,005	0,013±0,006	0,015±0,008	0,015±0,007
Gordura Subcutânea	0,094±0,034	0,096±0,032	0,094±0,033	0,111±0,033
Gordura Mesentérica	0,106±0,030	0,083±0,030	0,114±0,050	0,109±0,024
Gordura Marrom	0,116±0,022	0,110±0,023	0,111±0,022	0,120±0,016
Gordura Epididimal	0,050±0,023	0,033±0,011 ^d	0,051±0,022	0,052±0,017
Somatório dos Coxins Viscerais	0,170±0,048	0,129±0,039 ^{cd}	0,179±0,065	0,176±0,038
Somatório dos Coxins Brancos	0,263±0,065	0,225±0,068	0,273±0,079	0,287±0,063

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras indicam a diferença estatística em relação a letra da coluna com $p < 0,05$.

A próxima análise que corresponde a tabela 2, mostra os mesmos parâmetros discutidos anteriormente, mas agora para as fêmeas. A diferença de peso é bastante evidente ao observamos o grupo ST, que apresentou valores maiores que

os grupos T e TS. O comprimento naso-anal mostrou uma maior média do grupo T em relação ao grupo TS, onde a diferença constatada foi de 0,336 cm.

Essas duas variáveis apresentadas são utilizadas na determinação do índice de Lee. Nesse parâmetro, o grupo T apresentou índices menores que os grupos ST e TS, além do grupo S que também foi menor em comparação ao grupo ST.

Analisando isoladamente os coxins de gordura, brancos e o marrom, a única diferença estatística encontrada foi no depósito epididimal onde o grupo T apresentou média inferior ao ST. Essa diferença encontrada, nos leva a uma reflexão sobre qual a influência que o exercício físico exerce nos seus genitores e qual alteração pode ocorrer nos parâmetros de adiposidade de seus filhotes. A escassez de estudos que relacionam essas variáveis, aumenta a necessidade em encontrar os reais efeitos transmitidos de uma geração a outra. Assim, a epigenética mostra também sua interação com o exercício e a importância em ser desvendada suas reais influências.

A adiposidade desses animais, expresso também como a somatória dos coxins, revela o aumento da quantidade de tecido adiposo nos animais do grupo ST em relação ao T, aumentada em 75% na soma das viscerais e cerca de 56% no branco apontando diferença estatística nas duas variáveis. A cada dia, estudos reforçam a responsabilidade da gordura visceral sobre a resistência à insulina e consequentemente a síndrome metabólica. Já consolidado como um órgão complexo, o tecido adiposo, em especial a gordura abdominal, além de seu crescimento ser atrelado a resistência insulínica também mostra associação com a intolerância à glicose, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensão arterial. Assim, a identificação de indivíduos com excesso de gordura localizada passa a ser de fundamental importância, sabendo que os mesmos possuem um risco elevado a um quadro de síndrome metabólica, aumento as taxas de mortalidade cardiovascular (RIBEIRO FILHO *et al.*, 2006). Vários estudos mostraram uma expressão acentuada de citocinas inflamatórias na região com depósitos de gordura visceral que na subcutânea, isso reforça indícios na interferência da adiposidade intra-abdominal (GIORGINO *et al.*, 2005; HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004; TSIGOS *et al.*, 1999). Essas diferenças encontradas em nosso estudo, apesar de pequenas, podem a longo prazo iniciar mecanismos inflamatórios, assim, o exercício praticado por seus genitores pode ser uma ferramenta eficaz na proteção desses eventos, podendo

aumentar a sobrevivência de indivíduos que venham a desenvolver doenças na vida adulta.

Tabela 2 Peso (g) dos filhotes fêmeas, comprimento (cm) naso-anal, índice de Lee (g/cm), peso (g) dos tecidos adiposos retroperitoneal, subcutâneo, mesentérico, marrom, uterina/ovariana, soma (g) das gorduras viscerais e das gorduras brancas, dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).

Grupos Coluna	S (n=11) a	T (n=11) b	ST (n=10) c	TS (n=8) d
Peso	14,141±1,512	13,323±0,656	15,491±1,905 ^{bd}	13,557±1,525
C. Naso-Anal	7,255±0,175	7,336±0,201 ^d	7,120±0,290	7,000±0,302
Índice de Lee	332,975±8,365 ^c	323,248±9,333 ^{cd}	349,774±12,925	340,354±8,166
Gordura Retroperitoneal	0,013±0,009	0,013±0,005	0,021±0,012	0,013±0,008
Gordura Subcutânea	0,106±0,040	0,094±0,023	0,131±0,046	0,105±0,043
Gordura Mesentérica	0,103±0,035	0,076±0,009 ^c	0,130±0,068	0,105±0,051
Gordura Marrom	0,105±0,020	0,100±0,011	0,106±0,027	0,108±0,013
Gordura Uterina/Ovariana	0,021±0,015	0,012±0,006	0,024±0,012	0,024±0,018
Somatório dos Coxins Viscerais	0,136±0,041	0,100±0,011 ^c	0,175±0,073	0,142±0,074
Somatório dos Coxins Brancos	0,242±0,069	0,195±0,029 ^c	0,305±0,116	0,247±0,103

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras indicam diferença estatística em relação a letra da coluna com $p < 0,05$.

Estudos mostram que a hipertrofia do tecido adiposo (adipócitos), principalmente visceral, está associada ao aumentando de sua atividade lipolítica e, conseqüente maior liberação de ácidos graxos livres para a corrente sanguínea, Esse aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos a longo prazo está relacionado a um quadro de resistência à insulina e conseqüente inibição na captação de glicose. Essa troca de substratos energéticos pode ocasionar um quadro de hiperglicemia, elevando a concentração de insulina e posterior resistência, muita encontrada em indivíduos obesos (SALTIEL e KALN, 2001; BERGMAN e ADER, 2000).

Além disso, outra conseqüência relevante do aumento da massa de tecido adiposo é o quadro inflamatório generalizado, mas assintomático, subclínico, responsável por uma elevação nos níveis de citocinas pró-inflamatórias encontradas na corrente sanguínea, entre elas, $TNF\alpha$ e IL-6. Todas são produzidas pelo adipócito hipertrofiado (ZOU e SHAO, 2008).

A Tabela 3 possui dados em relação ao perfil glicídico e lipídico dos grupos S, T, ST e TS dos filhotes machos. A única diferença encontrada foi na variável colesterol total onde o grupo S apresentou maior média em relação ao grupo TS (S= 99,882±13,778 mg/dL vs TS= 86,657±9,979 mg/dL). Nas outras variáveis (Glicose, Colesterol VLDL e Triglicerídeo) o grupo T apresentou sempre valores menores em relação aos demais grupos, porém nenhuma diferença significativa.

Tabela 3 Perfil plasmático (mg/dL) dos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).

Grupos Coluna	S (n=13) a	T (n=13) b	ST (n=14) c	TS (n=16) d
Glicose	191,462±15,005	187,423±40,988	193,750±20,359	202,094±37,864
Colesterol Total	99,882±13,778 ^d	92,487±13,332	94,766±6,213	86,657±9,979
Colesterol VLDL	20,346±7,681	14,423±8,391	15,008±3,428	18,281±4,813
Triglicerídeo	101,731±38,403	72,115±41,956	75,038±17,140	91,406±24,067

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras indicam diferença estatística em relação a letra da coluna com $p < 0,05$.

O treinamento físico consolidado como um fator favorável no combate a dislipidemia, onde diversos estudos mostram que indivíduos sedentários apresentam menores níveis de colesterol HDL e maiores níveis de colesterol VLDL, LDL e triglicerídeos, quando comparados a indivíduos treinados. O fato pelo qual encontramos apenas uma diferença significativa, pode ser explicado pela baixa idade dos animais, sendo os mesmos sacrificados logo após ao desmame, com 21 dias de idade. Guezzi (2013) analisou o efeito do treinamento aeróbio em diferentes idades e constatou que ao final do experimento os animais que foram submetidos ao programa de treino com 12 meses de idade apresentaram aumento significativo nas concentrações séricas de glicose, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol total e triglicerídeos, quando comparados com os treinados aos 2, 4 e 6 meses. Assim, o estudo mostrou que apesar de treinados, o envelhecimento originou características presentes na síndrome metabólica.

Pfeiffer *et al.* (2015) analisaram genes em 1776 sujeitos e constaram associação na expressão da metilação ABCG1 e níveis de lipídeos, sendo reguladores dos mesmos. Ainda identificou que essa metilação pode ser responsável por um aumento na incidência de infarto no miocárdio. Bayol *et al.* (2013) encontraram

aumento na densidade de triglicerídeo hepático na prole de mães alimentadas durante a gestação e lactação com dieta composta por alimentos altamente palatáveis industrializados compostos por alto teor de gordura, açúcar e sal. Esses estudos reforçam a importância de como o estilo de vida dos pais influenciam o metabolismo de seus filhos, antes ou durante a sua fecundação, carregando muitas vezes heranças genéticas maléficas, que podem perdurar por toda a vida.

A concentração de glicose plasmática também não foi afetada. Esses resultados provavelmente se justificam acerca da pouca idade dos filhotes, sendo difícil encontrar alteração desse parâmetro plasmático nos animais em desenvolvimento. Em humanos, estudos que analisaram parâmetros plasmáticos em crianças brasileiras mostram que não houve diferença estatística entre as médias de colesterol, colesterol LDL e triglicerídeos entre os grupos obeso, sobrepeso e eutróficas. Quando comparados os valores das médias com crianças americanas também não foi encontrada diferença significativa (MADEIRA, 2009). Mesmo com obesidade, a análise que pode ser feita sobre esses resultados, que apesar do excesso de peso constatado, por serem crianças e estarem em fase de desenvolvimento. Sugere-se em outros experimentos que a análise seja feita com os sujeitos alcançando uma idade adulta, pensando assim que possíveis alterações já estejam estáveis.

A tabela 4 nos apresenta os valores de glicose, colesterol total, VLDL e triglicerídeo dos filhotes fêmeas dos grupos S, T, ST e TS. Apesar dos valores das médias dos grupos não mostrarem diferença estatística em nenhuma variável, conforme apontado anteriormente nos grupos de filhotes machos, o grupo T apresentou médias inferiores aos demais em todas as variáveis, exceto à colesterol total.

O fato dos pais terem sido submetidos a um protocolo de treinamento, não foi suficiente para promover alterações na concentração plasmática de triglicerídeos (Tabela 4), e também alterações nas concentrações das frações do colesterol (total e VLDL) em sua prole.

Tabela 4 Perfil plasmático (mg/dL) dos filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS).

Grupos Coluna	S (n=11) a	T (n=11) b	ST (n=10) c	TS (n=8) d
Glicose	187,909±37,083	164,682±12,497	177,389±36,221	189,125±21,477
Colesterol Total	92,369±11,284	86,713±8,376	84,375±8,397	83,919±9,153
Colesterol VLDL	22,855±10,538	16,127±10,053	18,630±7,806	22,725±6,783
Triglicerídeo	114,273±52,691	80,636±50,267	93,150±39,032	113,625±33,916

Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras indicam diferença estatística em relação a letra da coluna com $p < 0,05$.

Branco *et al.* (2011) em seu estudo tentou padronizar parâmetros bioquímicos analisando ratos *Wistar* e camundongos *Swiss* em diversas condições de biotério e em épocas diferentes, e com pesos diferentes. O resultado mostrou que a comparação do seguinte estudo com os existentes na literatura, aponta de uma forma clara que diferenças dentro da espécie existem, e são provavelmente resultantes do manuseio, metodologia ou ambiente em que vivem. Portanto, se faz necessário que essas variações sejam consideradas durante a escolha dos animais, e principalmente na análise dos resultados encontrados, podendo ser decisivas nas conclusões do estudo.

As figuras 5A e B apresentam os dados do diâmetro das células adiposas dos coxins mesentérico e subcutâneo nos filhotes machos, onde a média dos grupos mostrou diferença significativa no grupo filhotes de pais treinados (T) em relação aos demais grupos, no coxim subcutâneo. A média desse grupo foi inferior aos demais, confirmando essa tendência nos filhotes. Assim os animais que nasceram de pais que mantiveram uma vida ativa, com treinamento aeróbio de alta intensidade, mostraram um tamanho celular menor que os demais, podendo afirmar que o exercício sistematizado dos seus genitores provocou alteração no diâmetro das células adiposas do coxim subcutâneo. No coxim mesentérico a única diferença encontrada foi entre os grupos S e TS, em que o grupo filhotes de pais sedentários apresentaram média inferior. Esse dado aponta que quando o treinamento foi feito apenas por um dos genitores, os resultados encontrados se mostram confusos, onde o sedentarismo de ambos os genitores apresentou diminuição do diâmetro, tanto nos adipócitos mesentérico como no subcutâneo. Assim, nessa análise, apenas o treinamento de

ambos os genitores foi capaz de reduzir o tamanho dos adipócitos de gordura de sua prole em relação aos demais cruzamentos.

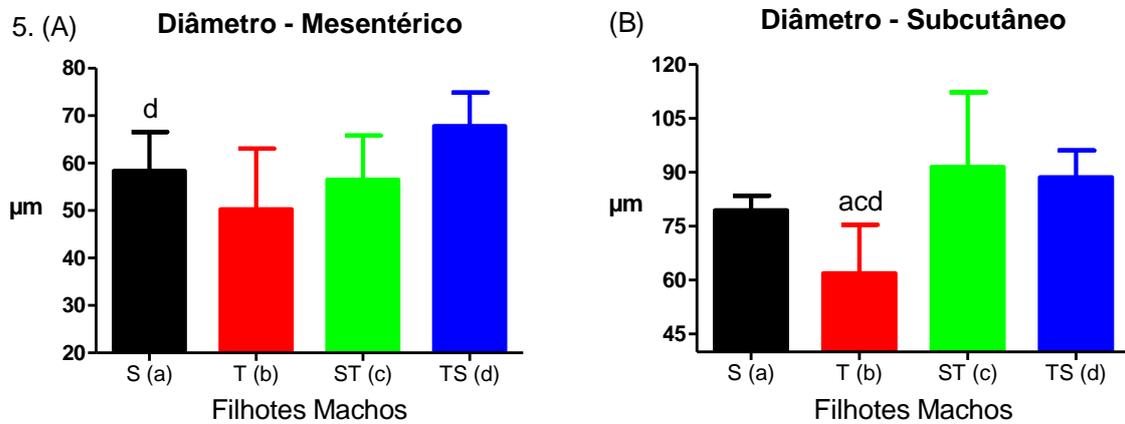


Figura 5. (A) Diâmetro (μm) do tecido adiposo branco mesentérico e (B) subcutâneo nos filhotes machos dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS). Valores expressos em média \pm desvio padrão; Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

Essa diferença também foi constatada nos filhotes fêmeas (Figuras 6A e B), onde o mesmo grupo, T, mostrou média inferior e significativa em relação aos demais grupo no coxim subcutâneo. Além disso, no coxim mesentérico, o grupo TS apresentou a maior média entre os grupos e foi diferente estatisticamente em relação aos demais grupo, assim como o grupo T que além de apresentar a menor média em todos os coxins, em ambos os sexos, mostrou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo S.

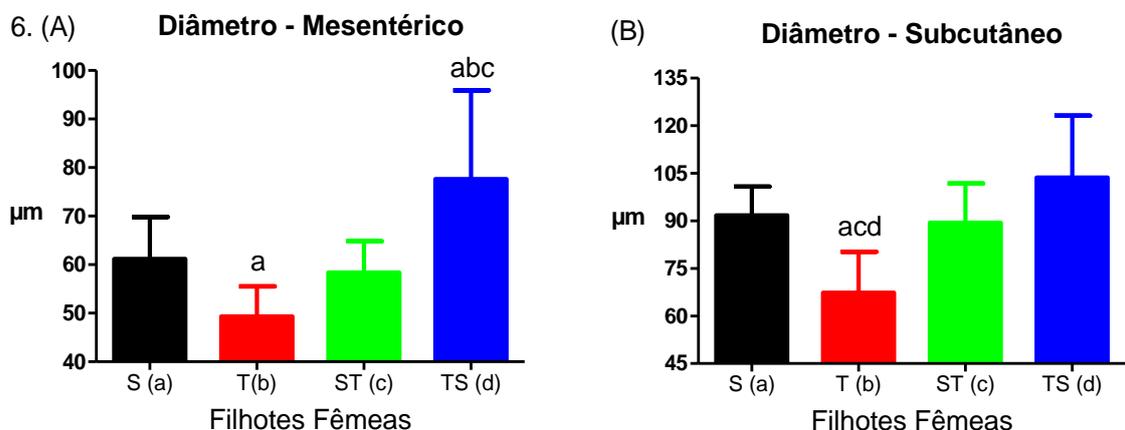


Figura 6. (A) Diâmetro (μm) do tecido adiposo branco mesentérico e (B) subcutâneo nas filhotes fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS). Valores expressos em média \pm desvio padrão; Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

A principal consequência de um aumento nos valores de triglicerídeos aferidos no soro sanguíneo é a hipercolesterolemia, esse resultado aumenta o risco para doenças cardiovasculares. Apesar de sua importância no metabolismo energético, os triglicerídeos exercem um papel contrário quando encontrados em excesso, sendo redirecionado para os depósitos de gordura, causando aumento dos mesmos e assim ampliando o seu diâmetro e conseqüentemente sua área total (CHEN e FARESE JR, 2002). As tabelas 3 e 4 nos mostraram que não houve diferenças estatísticas nos parâmetros glicídicos e lipídicos, porém quando analisados os valores do diâmetro dos coxins de gordura, principalmente no subcutâneo, o grupo composto por filhotes de genitores treinados mostrou médias menores que os demais grupos. Esse aumento do tamanho do adipócito, a longo prazo pode ser prejudicial e iniciar uma doença crônica caracterizada pela produção anormal de citocinas e ativação de vias inflamatórias, alteração estas encontradas em indivíduos com síndrome metabólica (YU *et al.*, 2012; WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2003).

Na maioria das investigações encontradas na literatura (YANG *et al.*, 2015; WALLBERG-HENRIKSSON e ZIERATH, 2015; GUERRA *et al.*, 2007; BRUUN, 2006), justifica-se esse aumento encontrado na área dos adipócitos, principalmente por intervenções dietéticas, onde utiliza-se alimentos de alto teor calórico e também a adoção de um estilo de vida sedentário, sem nenhum tipo de atividade física sistematizada. A análise do nosso estudo foi feita com filhotes de 21 dias de vida, recém desmamados, esperando que essas diferenças se agravem na vida adulta, assim a atividade física sistematizada dos pais surge como uma alternativa de proteção para sua prole, contra doenças causadas por aumento no diâmetro, e conseqüente acúmulo nos depósitos de gordura corporal.

Company *et al.* (2013) mostrou em seu estudo que animais treinados, após interrupção da atividade física iniciaram mecanismos obesogênicos, em relação aos efeitos do exercício físico e da restrição alimentar sobre a regulação da lipólise. Os adipócitos isolados em ratos machos e fêmeas, mostraram que o exercício foi capaz de inibir a proliferação celular, além de reduzir significativamente o diâmetro nos depósitos de gordura epididimal e uterina. Assim concluíram que o treinamento físico aumentou a capacidade de resposta dos hormônios lipolíticos nos adipócitos, e o estímulo nos adrenoreceptores, possivelmente no nível de proteínas quinases ou lipases. Essas alterações foram eficazes para alterar a morfologia e metabolismo do órgão endócrino adiposo.

Embora pesquisas (DUGGAN *et al.*, 2014; ROBSON-ANSLEY *et al.*, 2014; ZENG *et al.*, 2011; NAKAJIMA *et al.*, 2010) sobre a relação entre o exercício a longo prazo e a inflamação nas modificações epigenéticas ainda estão iniciando, a literatura existente apoia a hipótese dos mesmos serem um mecanismo regulador de mudanças ocorrida no DNA por meio do aumento de metilações e consequente alteração na expressão de proteínas reguladoras do metabolismo, desde sua formação até suas funções. Nitert *et al.* (2012) no estudo de indivíduos com histórico familiar de diabetes *mellitus* tipo 2, observou que a intervenção de seis meses de exercício moderado foi eficaz para induzir alterações na expressão de genes específicos. Após biópsia do músculo esquelético encontrou hipo e hipermetilações que ocorreram em 19 genes. Uma análise adicional com os mesmos sujeitos e outro estudo demonstrou que o tecido adiposo subcutâneo sofreu hipermetilação global além de diminuição da gordura abdominal e da pressão diastólica, além de aumentos no colesterol HDL e na V_{pico} (RÖNN *et al.*, 2013). Portanto, o exercício moderado a longo prazo também tem sido relatado como tendo efeitos benéficos sobre a metilação do DNA e a maioria os estudos citados concordam que um período de seis a doze meses é suficiente para modificar a estrutura de diversos genes associados com patologias e envelhecimento.

O exercício físico e metilação do DNA causam alterações e estas estão diretamente ligadas a mecanismos epigenéticos e seus efeitos protetores (SOARES, 2013). Essa metilação foi constatada no estudo de Horsburgh *et al.* (2015) que analisou o músculo esquelético vasto lateral após uma sessão aguda de exercício em bicicleta ergométrica, sendo os sujeitos, homens e mulheres jovens e sedentários. As análises demonstraram que as alterações encontradas foram nas regiões promotoras de PGC-1 α , PDK4 e PPAR- γ , após hipometilação, imediatamente após o exercício. Assim, devido as funções desses genes no metabolismo, a transcrição foi regulada positivamente e consequentemente trazendo resultados positivos a saúde. Portanto esses resultados acerca do exercício agudo contradiz a possibilidade de o mesmo conter efeitos deletérios e inflamatórios, porém a curta duração e a intensidade podem ser a responsável por inflamações moderadas.

As figuras 7A e B apontam a quantificação da proteína aP2 no coxim de gordura subcutâneo, tanto nos filhotes machos (A) como nos filhotes fêmeas (B). Os resultados mostraram tendência para um maior aumento percentual na expressão no grupo S em relação aos demais. Nos machos o grupo S apresentou maior expressão protéica de aP2 em comparação aos outros grupos. Este padrão de expressão se

repetiu para as fêmeas confirmando o aumento na síntese de aP2 no grupo com genitores sedentários.

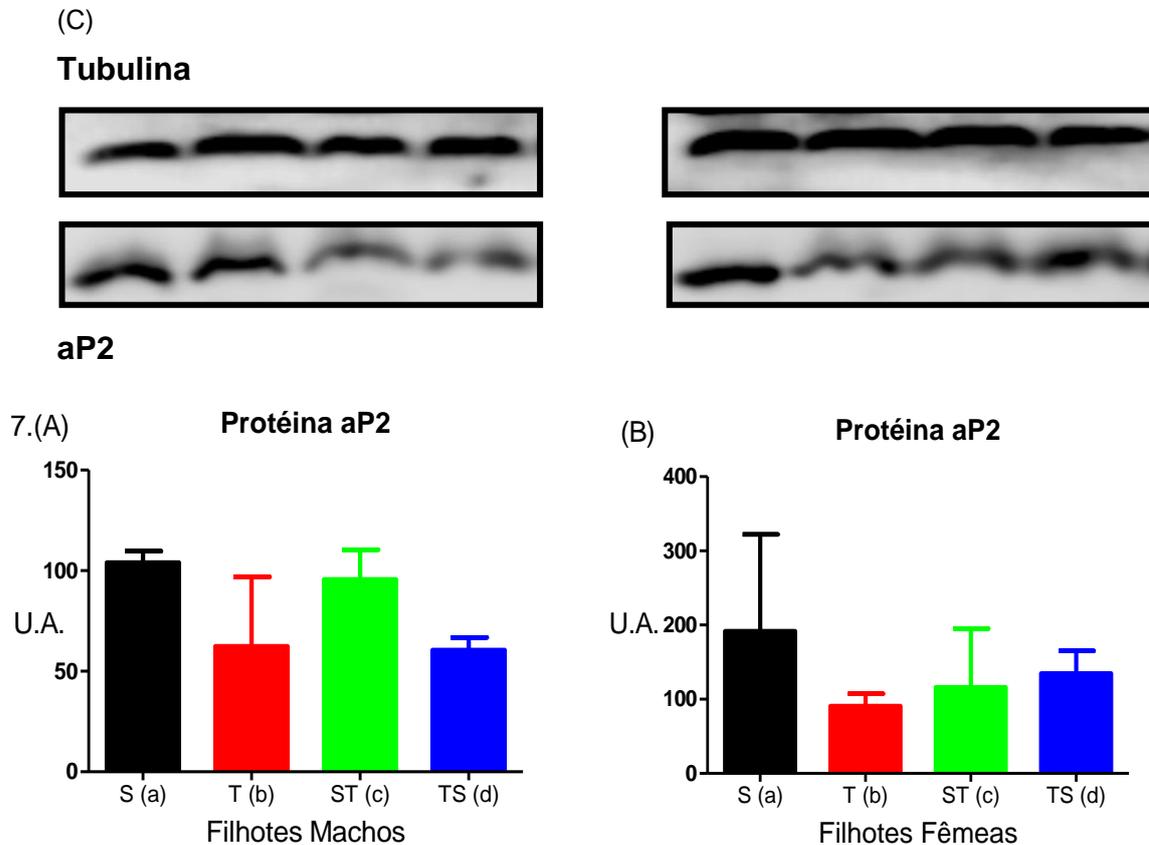


Figura 7. (A, B) Expressão proteica de aP2 e (C) *blot* representativo da quantificação das proteínas aP2 e tubulina no tecido adiposo subcutâneo nos filhotes machos e fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS). Valores expressos em média \pm desvio padrão; Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

A proteína aP2, é um gene completo, responsável pelo transporte de ácidos graxos no citossol dos adipócitos está presente em ratos e humanos, composto de 4 quilobases, formado por 4 exões e codifica uma série de aminoácidos. Quando introduzido artificialmente em células 3T3 indicam que o gene é fundamental para a aquisição do fenótipo adipocitário final, característico de adipócitos maduros sendo, portanto, fundamental para a formação do tecido adiposo (RONTI; LUPATTELLI; MANNARINO, 2006). Assim, confirmada essa atuação do exercício na expressão protéica, a pergunta a seguir é se essas alterações são transmitidas aos seus descendentes e de qual forma essa herança pode ser benéfica a vida dos mesmos. Portanto, nossas análises mostraram que além das diferenças encontradas no peso total e em alguns coxins de gordura, a expressão da aP2 no tecido adiposo

subcutâneo, uma das proteínas responsáveis pelo caráter funcional do adipócito e marcador fenotípico adipogênico, foi significativamente maior no grupo S, onde os genitores eram sedentários, em relação aos demais grupos. Esse resultado observado nos filhotes que se encontravam no início de suas vidas, em abundante desenvolvimento, pode significar uma diferença grande quando os mesmos alcançarem a vida adulta.

As figuras 8A e B apresentam os resultados na quantificação das inserções lipídicas infiltradas no tecido adiposo marrom dos filhotes. As análises mostraram que o treinamento dos genitores não foi suficiente para alterar os parâmetros da prole.

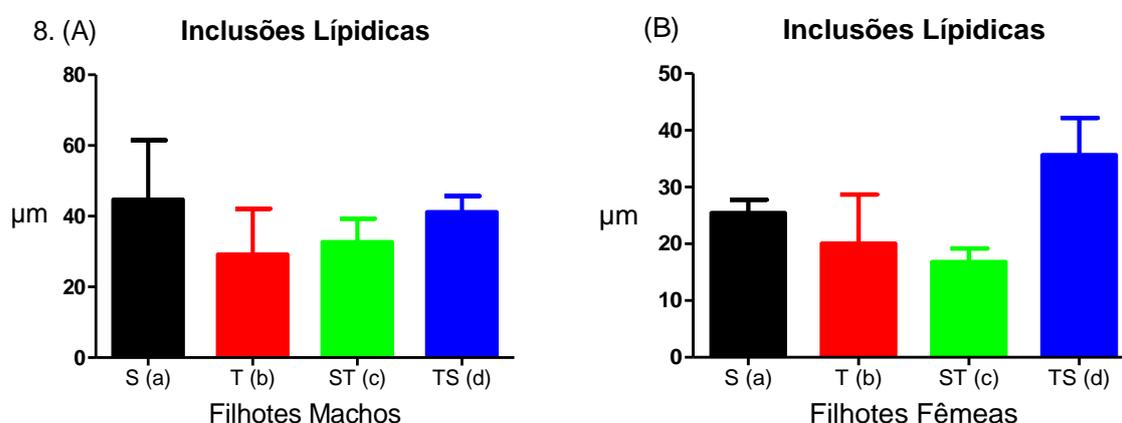


Figura 8. Determinação de inclusões lipídicas (μm) no tecido adiposo marrom dos filhotes (A) machos e (B) fêmeas dos grupos: Filhotes de Pais Sedentários (S), Filhotes de Pais Treinados (T), Filhotes de Pais Sedentários e Mães Treinadas (ST) e Filhotes de Pais Treinados e Mães Sedentárias (TS). Valores expressos em média \pm desvio padrão; Letras diferentes indicam $p < 0,05$.

Pesquisas realizadas nas últimas décadas sugerem que além da conhecida função termogênica do tecido adiposo marrom, o mesmo pode ser a ferramenta auxiliar no controle da sensibilidade à insulina e conseqüente protetor para eventos futuros de síndrome metabólica (CYPESS *et al.*, 2009). Devido a grande quantidade de mitocôndrias em sua composição, o tecido adiposo marrom tem uma expressão acentuada da proteína UCP1, uma das responsáveis pela geração de calor por meio da reentrada de prótons contra o gradiente de concentração na matriz mitocondrial, desacoplando a respiração da produção de ATP (SPIEGELMAN e FLIER, 2001). Xu *et al.* (2011) em sua investigação afirmaram que o exercício aeróbio em esteira rolante, sendo 40 minutos por dia e 5 vezes na semana, durante 8 semanas foi eficaz para aumentar a capacidade de diferenciação (*in vitro*) de pré-adipócitos em adipócitos marrons, além do aumento do mesmo. Essas diferenças adipogênicas nos

tecidos adiposos branco e marrom afetam o balanço energético, assim sendo fundamental para prevenir eventos corriqueiros de inflamações advindas dos depósitos gordurosos. Como relatado, o tecido adiposo é um órgão dinâmico, em um ano 10% das células são renovadas independente da idade (SPALDING *et al.*, 2008), intervenções vindas do exercício podem alterar e ajudar a combater eventos prejudiciais à saúde, como uma possível programação metabólica ruim herdada de genitores que mantiveram uma vida desregrada, com maus hábitos alimentares e falta de atividade física. Em nossas análises, o exercício físico executado pelos genitores não foi suficiente para alterar a morfologia (por meio do aumento de gotas lipídicas no tecido marrom interescapular) de sua prole. Nossa hipótese seria a de que o a prole de animais treinados demonstra-se menor inclusão lipídica, sugestivo de maior mobilização de ácidos graxos estocados na forma de triacilglicerol e consequente atividade mitocondrial. Finalmente, não descartamos modificações na expressão de proteínas adipogênicas deste tecido, responsáveis pelo seu crescimento e desenvolvimento, já que nossos filhotes possuíam apenas 21 dias de vida.

6 CONCLUSÃO

O treinamento físico aeróbio realizado pelos genitores treinados foi eficiente para alterar o condicionamento físico dos animais em comparação aos grupos sedentários. Essas diferenças foram confirmadas pelos resultados da velocidade pico alcançados ao final do período de treinamento e após teste incremental. Apesar das diferenças encontradas no condicionamento físico, o peso e o consumo de ração não foram modificados pelo treinamento.

Nos filhotes, as principais alterações encontradas, mostraram que o treinamento executado pelos genitores ocasionou em sua prole menor adiposidade dos coxins viscerais, reduzindo o diâmetro dos adipócitos subcutâneos.

Nos grupos onde apenas um dos genitores foi treinado (mãe ou pai), os resultados não apresentaram um padrão para todas as variáveis analisadas, porém, em grande parte, o treinamento executado pelo pai foi mais eficaz para reduzir a adiposidade da prole do que nas mães.

Estas adaptações observadas em filhotes de pais treinados sugerem um mecanismo de *imprinting* epigenético transmitido verticalmente a gerações futuras, visto as alterações encontradas entre os grupos. Apesar da pouca idade dos filhotes avaliados (21 dias), o treinamento físico sistematizado em ambos os genitores mostrou ser eficaz para alterar a adiposidade de sua prole, assim, em estudos futuros, espera-se que essas modificações sejam agravadas conforme o desenvolvimento e maior idade desses animais.

7 REFERÊNCIAS

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

AMER N.M.; SANCHES D.S.; MORAES S.M.F. Índice de massa corporal e razão cintura/quadril de praticantes de atividade aeróbica moderada. **Revista da Educação Física – UEM**, v.12, n.2, p.97-103, 2001.

ANDRADE M.L. **Exercício físico de baixa intensidade altera adiposidade da prole de 21 dias provenientes de mães alimentadas com dieta de cafeteria** [dissertação de mestrado], Maringá, Brasil: Universidade Estadual de Maringá, 2014.

APPLEGATE E.A.; UPTON D.E.; STERN J.S. Exercise and detraining: effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne–Mendel rats made obese by a high fat diet. **J Nutr**, v.114, p.447-459, 1984.

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

ASLIAKYOL S.C., EVANS L., MACMULLEN S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. **Journal of Nutrition**, v.102, n.11, p.1601-1610, 2009.

AU-YONG T.I.; THORN N.; GANATRA R.; PERKINS A.C.; SYMONDS M.E.. Brown adipose tissue and seasonal variation in humans. **Diabetes**, 2009.

BAKOS H.W.; HENSHAW R.C.; MITCHELL M.; LANE M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following assisted reproductive technology. **Fertil Steril**, v.95, p.1700-1704, 2011.

BAYOL S.A.; SIMBI B.H., FOWKES R.C.; STICKLAND N.C. A maternal “junk food” diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. **Endocrinology**, v.151, jul. 2013.

BAYOL S.A.; FARRINGTON S.J.; STICKLAND N.C. A maternal ‘junk food’ diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for ‘junk food’ and a greater propensity for obesity in rat offspring. **Journal of Nutrition**, v.98, p.843-851, 2007.

BAYOL S.A.; SIMBI B.H., BERTRAND J.A., STICKLAND N.C. Offspring from mothers fed a ‘junk food’ diet in pregnancy and lactation exhibit exacerbated adiposity that is more pronounced in females. **Journal Physiology**, v.13, p.3219-3230, 2008.

BAYOL S.A., SIMBI B.H., STICKLAND N.C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **Journal Physiology**, v.3, p.951-961, 2005.

BENEKE R., LEITHAUSER R.M., OCHENTEL O. Blood lactate diagnostics in exercise testing and training. **Int J Sports Physiol Perform**, v.6, n.1, p.8-24, 2011.

BERGMAN R.N., ADER M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Trends Endocrinol Metab**, v.11, p.351-6, 2000.

BERTHOIN S.; PELAYO P.; LENSEL-CORBEI; ROBIN H.; GERBEAUX M. Comparison of maximal aerobic speed as assessed with laboratory and field measurements in moderately trained subjects. **Int J Sports Med**, v.17, p.525-9, 1996.

BINDER N.K.; HANNAN N.J.; GARDNER D.K. Paternal diet-induced obesity retards early mouse embryo development, mitochondrial activity and pregnancy health. **PLoS**, 2012.

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

BRAGA L.; MELLO M.; MANCHADO F.; GOBATTO, C. Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do destreinamento sobre o peso corporal e o metabolismo muscular de ratos obesos. **Rev Port Cien Desp [online]**, v.6, n.2, p.160-169, 2006.

BRANCO A.C.S.C.; DINIZ M.F.F.M.; ALMEIDA R.N.; SANTOS H.B.; OLIVEIRA K.M.; RAMALHO J.A.; DANTAS J.G. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos wistar e camundongos swiss do biotério. **Revista brasileira de ciências da saúde**, v.15, n.2, p.209-214, 2011.

BRUUN J.M.; HELGE J.W.; RICHELSEN B.; STALLKNECHT B. Diet and exercise reduce low-grade inflammation and macrophage infiltration in adipose tissue but not in skeletal muscle in severely obese subjects. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.290, n.5, p.E961-E967, 2006.

BUENO P. G. **Expressão da miostatina e actriib em ratos submetidos a dieta hiperlipídica e exercício** [dissertação de mestrado], São Carlos, Brasil: Universidade Federal de São Carlos, 2009.

CANNON B.; e NEDERGAARD J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. **Physiological Reviews**, v.84, n.1, p.277-359, 2004.

CHEN H.C.; FARESE JR R.V. Determination of adipocyte size by computer image analysis. **J. Lipid Res**, v.43, p.986-989, 2002.

CLAPP J.F. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. **European journal of obstetrics gynecology and reproductive biology**, v.110, p.80-85, 2013.

COMMITTEE C.D.A.C.P.G.E. Canadian Diabetes Association clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. **Can J. Diabetes**, v.27, p.99-1009, 2003.

COMPANY J.M.; ROBERTS M.D.; TOEDEBUSCH R.G.; CRUTHIRDS C.L.; BOOTH F.W. Sudden decrease in physical activity evokes adipocyte hyperplasia in 70- to 77-day-old rats but not 49- to 56-day-old rats. **American Journal of Physiology**, v.305, n.12, R1465-R1478, 2013.

CONWAY B.; RENE, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. **Obes Rev**, v.5, p.145-51, 2004.

COUTINHO W. Consenso Latino Americano de Obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.43, p.21-67, 1999.

CYPRESS A.M.; LEHMAN S.; WILLIAMS G.; TAL I.; RODMAN D.; GOLDFINE A.B.; KUO F.C.; PALMER E.L.; TSENG Y.H.; DORIA A.; KOLODNY G.M.; KAHN C.R. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. **New England Journal of Medicine**, 2009.

CYRINO E.S; NARDO N. Jr. Subsídios para a prevenção e controle da obesidade. **Revista de atividade física e saúde**, p.15-25, 1996.

DOM J.; NAUGHTON J.; IMAMURA D.; TREVISAN M. Correlates of compliance in a randomized exercise trial in myocardial infarction patients. **Med Sci Sports Exerc**, v.33, p.1976-8, 2001.

DUGGAN C.; XIAO L.; TERRY M.B.; MCTIERNAN A. No effect of weight loss on LINE-1 methylation levels in peripheral blood leukocytes from postmenopausal overweight women. **Obesity**, v.22, p.2091-2096, 2014.

ENRIORI P. J.; EVANS A. E.; SINNAYAH, P. et al. Diet-Induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. **Cell Metab**, v.5, p.181-194, 2007.

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

ESTEVEVES J.V.D.C. **Efeito do treinamento físico e dieta alimentar sobre a adiposidade e resistência insulínica de prole macho de ratas submetidas a dieta de cafeteria** [dissertação de mestrado], Maringá, Brasil: Universidade Estadual de Maringá. 2012.

FABRICIO G.S. **Super alimentação na infância, compromete o vo₂máx. de ratos submetidos a um programa de treinamento físico moderado** [dissertação de mestrado], Maringá, Brasil: Universidade Estadual de Maringá. 2014.

FAIN J.N.; MADAN A.K.; HILER M.L.; CHEEMA P.; BAHOUTH S.W. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology**, v.145, p.2273-2282, 2004.

FLUCK M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. **J Exp Biol**, v.209, p.2239-2248, 2006.

FRANCISCHI R.P.P.; PEREIRA L.O.; FREITAS C.S.; KLOPPER M.; SANTOS R.C.; VIEIRA P.; LANCHÁ JÚNIOR A.H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Rev. Nutr**, v.13, jan/apr. n.1, 2000.

FRAYN K.N.; KARPE F.; FIELDING B.A.; MACDONALD I.A.; COPPACK S.W. Integrative physiology of human adipose tissue. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.27, p.875-888, 2003.

FREITAS P.; CARVALHO D.; SOUTO S.; ANTÓNIO SARMENTO A.; MEDINA J.L. Lipodystrophy: The Metabolic Link of HIV Infection with Insulin-Resistance Syndrome. **Current Perspectives in HIV Infection**, 2013.

FRÜHBECK G.; GÓMEZ-AMBROSI J.; MURUZABAL F.J.; BURRELL M.A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am J Physiol**, v.280, p.E827–E847, 2001.

GALLAHUE D.L.; OZMUN J.C.; GOODWAY J.D. **Compreendendo o Desenvolvimento Motor: bebês, crianças, adolescentes e adultos**. Tradução: Denise Regina de Sales 7ª. ed. Porto Alegre: AMH, 2013.

GESTA S.; TSENG Y.H.; KAHN C.R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. **Cell**, v.31, p.242-256, 2007.

GHEZZI, Ana Carolina. Marcadores da síndrome metabólica e da capacidade aeróbia de ratos (*Rattus Norvegicus Albinus*, Wistar) em diferentes idades: efeito do exercício. 2013. Dissertação - (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2013.

GICQUEL C.; EL-OSTA A.; BOUC Y.L. Epigenetic regulation and fetal programming. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.22, n.1, p.1-16, 2008.

GIORGINO F.; LAVIOLA L.; ERIKSSON J.W. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. **Acta Physiol Scand**, v.183, p.13-30. 2005.

GRUNDY S.M.; BREWER JR H.B.; CLEEMAN J.I.; SMITH JR S.C.; LENFANT C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, v.109, p.433-438, 2004.

GUEDES D.P.; GUEDES J.E.R.P. **Prescrição e orientação da atividade física direcionada à promoção de saúde**, Londrina, Brasil: Miograf, 1995.

GUEDES D.P. **Composição corporal, princípios, técnicas e aplicações**, 2.ed. Londrina: APEF de Londrina, 1994.

GUERRA R.L.; PRADO W.L.; CHEIK N.C. et al. Effects of 2 or 5 consecutive exercise days on adipocyte area and lipid parameters in Wistar rats. **Lipids Health Dis**, v.6, p.16, 2007.

GUO F.; JEN K-L. High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. **Physiol Behav**, v.57, p.681–686, 1995.

GUO Y.F.; SHEN H.; LIU Y.J.; WANG W.; XIONG D.H.; XIAO P.; LIU Y.Z.; ZHAO L.J.; RECKER R.R.; DENG H.W. Assessment of genetic linkage and parent-of-origin effects on obesity. **J Clin Endocrinol Metab**, v.91, p.4001-4005, 2006.

HAKONSEN L.B.; THULSTRUP A.M.; AGGERHOLM A.S.; OLSEN J.; BONDE J.P. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. **Reprod Health**, v.8, p.24, 2011.

HAUNER H.; BOGNAR E.; BLUM A. Body fat distribution in men with angiographically confirmed coronary artery disease. **Artherosclerosis**, v.85, 1990.

HERMSDORFF H.H.M.; MONTEIRO J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.48, p.803-11, 2004.

HILL D.W.; ROWELL A.L. Running velocity at VO₂max. **Med Sci Sports Exerc**, v.28, p.114-9, 1996.

HOPPELER H. E FLUCK M. Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, p.95-104, 2003.

HORSBURGH S.; TOMS C.; MORAN C.; ANSLEY L. Effects of 120 minutes of treadmill running on DNA methyltransferase 3A and 3B nuclear concentrations in peripheral blood mononuclear cells. **Physiology**, 2015.

HUGHSON R.L. Oxygen uptake kinetics: historical perspective and future directions. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.34, n.5, p.840-50, 2009.

IWAMOTO J. *et al.* Effects of treadmill exercise on bone mass, bone metabolism, and calciotropic hormones in young growing rats. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 22, n.1, p.26-31, 2004.

JONES A.P.; FRIEDMAN M.I. Obesity and adipocyte abnormalities in offspring of rats undernourished during pregnancy. **Science**, v.215, p.1518-1519, 1982.

KALISIAK B.; SPITZNAGLE T. What effect does an exercise program for healthy pregnant women have on the mother, fetus, and child? **PM&R**, v.1, n.3, p.261-6, 2009.

KASTURI S.S.; TANNIR J.; BRANNIGAN R.E. The metabolic syndrome and male infertility. **J. Androl**, v.29, p.251–259, 2008.

KATHERINE M.F.; BRIAN K.K.; HEATHER O.; BARRY I.G. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories a systematic review and meta-analysis. **Jama**, v.309, n.1, p.71-82, 2012.

KELTZ J.; ZAPANTIS A.; JINDAL S.K.; LIEMAN H.J.; SANTORO N. Overweight men: clinical pregnancy after ART is decreased in IVF but not in ICSI cycles. **J Assist Reprod Genet**, v.27, p.539-544, 2010.

KOZA R.A.; NIKONOVA L.; HOGAN J. et al. Changes in gene expression foreshadow diet-induced obesity in genetically identical mice. **PLoS Genet**, v.2, p.81, 2006.

KRAL J.G.; BIRON S.; SIMARD S. et al. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. **Pediatrics**, v.118, p.1644-e1649, 2006.

KRIEGLER M.; PEREZ C.; DE FAY K.; ALBERT I.; LU S.D. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology. **Cell**, v.53, p.45-53, 1988.

LACOUR J.R.; PADILLA S.; CHATARD J.C.; ARSAC L.; BARTHÉLÉMY J.C. Assessment of running velocity at maximal oxygen uptake. **Eur J Appl Physiol**, v.62, p.77-82, 1991.

LEMURA L.M.; MAZIEKAS M.T. Factors that alter body fat, body mass, and fat-free mass in pediatric obesity. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.34, n.3, p.487-496, 2002.

LEOW M.K.; ADDY C.L.; MANTZOROS C.S. Clinical review 159: human immunodeficiency virus/highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: clinical presentation, pathophysiology, and therapeutic strategies. **J Clin Endocrinol Metab**, v.88, p.1961-1976, 2003.

LEVIN B.E.; DUNN-MEYNELL A.A. Differential effects of exercise on body weight gain and adiposity in obesity-prone and resistant rats. **Int J Obes**, v.30, p.722-727, 2006.

LEVIN B.E.; KANG L.; SANDERS N.M.; DUNN-MEYNELL A.A. Role of neuronal glucosensing in the regulation of energy homeostasis. **Diabetes**, v.55, p.S122-S130, 2006.

LOPES I.M.; MARTI A.; MORENO-ALIAGA M.J.; MARTÍNEZ A. Aspectos Genéticos da obesidade. **Rev. Nutr**, 2004 v.17, jul/sep. n.3, 2004.

MADEIRA I.R.; CARVALHO C.N.; GAZOLLA F.M.; PINTO L.W.; BORGES M.A.; BORDALLO M.A. Impact of obesity on metabolic syndrome components and adipokines in prepubertal children. **J Pediatr**, v.85, n.3, p.261-268, 2009.

MAUGHAN R.J.; LEIPER J.B.; SHIRREFS S.M. Reidratação e recuperação após o exercício, 1997. Disponível em: www.gssi.com.br.

MCGEE S.L.; FAIRLIE E.; GARNHAM A.P.; HARGREAVES M. Exercise-induced histone modifications in human skeletal muscle. **J Physiol**, v.587, p.5951-5958, 2009.

MCPHERSON N.O.; FULLSTON T.; AITKEN R.J.; LANE M. Paternal Obesity, Interventions, and Mechanistic Pathways to Impaired Health in Offspring. **Nutr Metab**, v.64, p.231-238, 2014.

MEYER F.; PERRONE C.A. Hidratação pós-exercício – Recomendações e Fundamentação Científica. **R. Bras. Ci e Mov**, v.12, n.2, p.87-90, 2004.

MIURA K.; MIYAZAKI T.; OGURA C.; OKAZAKI Y.; JINNO Y. Age related changes in 5-methylcytosine content in human peripheral leukocytes and placentas: an HPLC-based study. **Ann Hum Genet**, v.68, p.196-204, 2004.

MOHAMED-ALI V.; PINKNEY J.H.; COPPACK S.W. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. **Int J Obesity**, v.22, p.1145-1158, 1998.

MOKDAD A.H.; MARKS J.S.; STROUP D.F.; GERBERDING J.L. Actual causes of death in the United States, 2000. **JAMA**, v.291, p.1238-1245, 2004.

MULER A.P.Ç.; TORT A.H.; GNOATTO J.; MOREIRA J.D.; VINADE E.R.; PERRY M.L.; SOUZA D.O.; LARA D.R.; PORTELA L.V. Metabolic and behavioral effects of chronic olanzapine treatment and cafeteria in rats. **Behavioural Pharmacology**, v.21, n.7, p.668-75, 2010.

NAKAJIMA K.; TAKEOKA M.; MORI M.; HASHIMOTO S.; SAKURAI A.; NOSE H.; HIGUCHI K.; ITANO N.; SHIOHARA M.; OH T.; TANIGUCHI S. Exercise effects on methylation of ASC gene. **Int J Sports Med**, v.31, p.671-675, 2010.

NGUYEN R.H.; WILCOX A.J.; SKJAERVEN R.; BAIRD D.D. Men's body mass index and infertility. **Hum Reprod**, v.22, p.2488-2493, 2007.

NITERT M.D.; DAYEH T.; VOLKOV P.; ELGZYRI T.; HALL E.; NILSSON E.; YANG B.T.; LANG S.; PARIKH H.; WESSMAN Y.; WEISHAUPHT H.; ATTEMA J.; ABELS M.; WIERUP N.; ALMGREN P.; JANSSON P.A.; RNN T.; HANSSON O.; ERIKSSON K.F.; GROOP L.; LING C. Impact of an exercise intervention on DNA methylation in skeletal muscle from first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. **Diabetes**, v.61, p.3322-3332, 2012.

NOAKES T.D.; MYBURGH K.H.; SCHALL R. Peak treadmill running velocity during the VO2max test predicts running performance. **J Sports Sci**, v.8, p.35-45, 1990.

O'KEEFE J.H.; VOGEL R.; LAVIE C.J.; CORDAIN L. Exercise like ahunter-gatherer: a prescription for organic physical fitness. **Prog Cardiovasc Dis**, v.53, p.471-479, 2011.

OZANNE S.E.; LEWIS R.; JENNINGS B.J.; HALES C.N. Early programming of weight gain in mice prevents the induction of obesity by a highly palatable diet. **Clin Sci**, v.106, p.141-145, 2004.

PALMER N.O.; BAKOS H.W.; OWENS J.A.; SETCHELL B.P.; LANE M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.302, p.E768-780, 2012.

PATTERSON C.M.; DUNN-MEYNELL A.A.; LEVIN B.E. Three weeks of early on set exercise prolongs obesity- resistance in DIO rats after exercise cessation. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.294, p.R290-R301, 2008.

PEDROSO R.V.; PRADO A.K.G.; GALLO L.H.; COSTA JUNIOR M.; BETOLINI N.O.; DALIA R.A.; MELLO M.A.R.; LUCIANO E. Efeitos do treinamento aeróbio sobre o perfil lipídico de ratos com hipertireoidismo. **Rev Bras Med Esporte**, v.18, jul/ago. n.4, 2012.

PERES S.B.; MORAES S.M.F.; COSTA C.E.M.; BRITO L.C.; TAKADA J.; ANDREOTTI S.; MACHADO M.A.; ALONSO-VALE M.I.C.; BORGES-SILVA C.N.; LIMA F.B. Endurance exercise training increases insulin responsiveness in isolated adipocytes through IRS/PI3-kinase/Akt pathway. **J. Appl. Physiol**, v.9, n.3, 1037-43, 2005.

PFEIFFERM L.; WAHL S.; PILLING L.C.; REISCHL E.; SANDLING J.K.; KUNZE S.; HOLDT L.M.; KRETSCHMER A.; SCHRAMM K.; ADAMSKI J.; KLOPP N.; ILLIG T.; HEDMAN A.K.; RODEN M.; HERNANDEZ D.G.; SINGLETON A.B.; THASLER W.E.; GRALLERT H.; GIEGER C.; HERDER C. DNA methylation of lipid-related genes affects blood lipid levels. **Circ Cardiovasc Genetic**, v.12, jan. 2015.

PINBORG A.; GAARSLEV C.; HOUGAARD C.O.; NYBOE ANDERSEN A.; ANDERSEN P.K. Influence of female bodyweight on IVF outcome: a longitudinal multicentre cohort study of 487 infertile couples. **Reprod Biomed Online**, v.23, p.490-499, 2011.

POWER C.; LI L.; MANOR O.; DAVEY SMITH G. Combination of low birth weight and high adult body mass index: at what age is it established and what are its determinants? **J. Epidemiol. Community Health**, v.57, p.969-973, 2003.

PRADO W.L.; LOFRANO M.C.; OYAMA L.M.; DÂMASO A.R. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Rev Bras Med Esporte**, v.15, set/out. n.5, 2009.

RAMLAU-HANSEN C.H.; THULSTRUP A.M.; NOHR E.A.; BONDE J.P.; SØRENSEN T.I. Subfecundity in overweight and obese couples. **Hum Reprod**, v.22, p.1634-1637, 2007.

RAVAGNANI F.C.P.; RAVAGNANI C.F.C.; NETO J.A.B.; VOLTARELLI F.A.; ZAVALA A.A.; HABITANTE C.A.; CELSO MASSASCHI INOUE C.M. Efeito de dietas hiperlipídicas com extrato de baru e chocolate sobre a área de adipócitos de ratos submetidos ao exercício físico. **Rev Bras Med Esporte**, v.18, mai/jun, n.3, 2012.

RAVELLI G.P.; STEIN Z.A.; SUSSER M.W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **N Engl J Med**, v.295, p.349-353, 1976.

REN H.; COLLINS V.; CLARKE S.J.; HAN J.S.; LAM P.; CLAY F.; WILLIAMSON L.M.; ANDY CHOO K.H. Epigenetic changes in response to tai chi practice: a pilot investigation of DNA methylation marks. **Evid Based Complement Alternat Med**, 841810, 2012.

RIBEIRO FILHO F.F.; MARIOSIA L.S.; FERREIRA S.R.G.; ZANELLA M.T. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, abr. n.2, p.230-238, 2006.

ROBSON-ANSLEY P.J.; SAINI A.; TOMS C.; ANSLEY L.; WALSHE I.; NIMMO M.A.; CURTIN J.A. Dynamic changes in DNA methylation status in peripheral blood mononuclear cells following an acute bout of exercise: potential impact of exercise-induced elevations in interleukin-6 concentration. **J Biol Regul Homeost Agents**, in press, 2014.

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

RÖNN T.; VOLKOV P.; DAVEGÅRDH C.; DAYEH T.; HALL E.; OLSSON A.H.; NILSSON E.; TORNBERG A.; NITERT M.D.; ERIKSSON K-F.; JONES H.A.; GROOP L.; LING C. A Six Months Exercise Intervention Influences the Genome-wide DNA Methylation Pattern in Human Adipose Tissue. **Plos Genet**, v.9, jun. n.6, 2013.

RONTI T.; LUPATTELLI G.; MANNARINO E. The endocrine function of adipose tissue: an update. **Clinical Endocrinology**, p.1365-2265, 2006.

ROSA L.F.B.P.C.; JUNIOR M.L.B. Efeito do treinamento físico como modulador positivo nas alterações no eixo neuroimunoendócrino em indivíduos com insuficiência cardíaca crônica: possível atuação do fator de necrose tumoral- α . **Rev Bras Med Esporte**, v.11, n.4, 2005.

SABIA R.V. SANTOS J.E.; RIBEIRO R.P.P. Efeito da atividade física associada à orientação alimentar em adolescentes obesos: comparação entre o exercício aeróbio e anaeróbio. **Rev Bras Med Esporte**, v.10, set/out. n.5, 2004.

SALTIEL A.R.; KALN C.R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v.414, p.799-806, 2001.

SALVE M.G.C. Obesidade e peso corporal: riscos e conseqüências. **Movimento e Percepção**, v.6, jan/jun. n.8, p.29-48, 2006.

SAMPEY B.P.; VANHOOSE A.M.; WINFIELD H.M.; FREEMERMAN A.L.; MUEHLBAUER M.J.; FUEGER P.T.; NEWGARD C.B.; MAKOWSKI L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high fat diet. **Obesity**, v.19, p.1109-117, 2011.

SANCHEZ-GURMACHES J.; GUERTIN D.A. **Adipocyte lineages: Tracing back the origins of fat** [program in molecular medicine], Worcester, USA: University of Massachusetts Medical School, 2014.

SANCHIS-GOMAR F.; GARCIA-GIMENEZ J.L.; PEREZ-QUILIS C.; GOMEZ CABRERA M.C.; PALLARDO F.V.; LIPPI G. Physical exercise as an epigenetic modulator. Eustress, the “positive stress” as an effector of gene expression. **J Strength Cond Res**, v.26, n.12, p.3469-3472, 2012.

SIITERI P.K. Adipose tissue as a source of hormones. **Am J Clin Nutr**, v.45, p.277-282, 1987.

SILVA D. F.; SIMÕES H.G.; MACHADO F.A. vVO₂max versus V_{peak}, what is the best predictor of running performances in middle-aged recreationally-trained runners? **Sci sports**, 2014.

SOARES F.H. e DE SOUSA M.B. Different types of physical activity on inflammatory biomarkers in women with or without metabolic disorders: a systematic review. **Women Health**, v.53, p.298-316, 2013.

SOARES L.D.; PETROSKI E.L. Prevalência, fatores etiológicos e tratamento da obesidade infantil. **Rev Bras Cine Des Hum**, v.5, n.1, p.63-74, 2003.

SPALDING K.L.; ARNER E.; WESTERMARK P.O.; BERNARD S.; BUCHHOLZ B.A.; BERGMANN O.; BLOMQUIST L.; HOFFSTEDT J.; NASLUND E.; BRITTON T.; CONCHA H.; HASSAN M.; RYDEN M.; FRISEN J.; ARNER P. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**, v.453, p.783-787, 2008.

SPIEGELMAN B.M.; FLIER J.S. Obesity and the regulation of energy balance. **Cell**, v.104, p.531-543, 2001.

SUNG K.; BAE S. Effects of a regular walking exercise program on behavioral and 970 biochemical aspects in elderly people with type II diabetes. **Nurs Health Sci**, 2012.

TORRES J.A.A.; BACCARELLI A.; BOLLATI V. Epigenetics and lifestyle. **Epigenomics**, v.3, jun. n.3, p.267-277, 2011.

TRAYHURN P. e BEATTIE J.H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. **Proc Nutr Soc**, v.60, p.329-339, 2001.

TSIGOS C.; KYROU I.; CHALA E.; TSAPOGAS P.; STAVRIDIS J.C.; RAPTIS S.A. Circulating tumor necrosis factor alpha concentrations are higher in abdominal versus peripheral obesity. **Metabolism**, v.48, p.1332-5, 1999.

VELEVA Z.; TIITINEN A.; VILSKA S.; HYDÉN-GRANSKOG C.; TOMÁS C.; MARTIKAINEN H.; TAPANAINEN J.S. High and low BMI increase the risk of miscarriage after IVF/ICSI and FET. **Human Reproduction**, v.23, p. 878-884, 2008.

VERNOCHET C.; PERES S.B.; FARMER S.R. Mechanisms of obesity and related pathologies: Transcriptional control of adipose tissue development. **FEBS J**, v.276, n.20, p.5729-5737, 2009.

WALLBERG-HENRIKSSON, H. e ZIERATH, R. Metabolism: Exercise remodels subcutaneous fat tissue and improves metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v.11, p. 198-200, 2015.

WATERLAND R.A.; JIRTLE R.L. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. **Mol Cell Biol**, v.23, p.5293-5300, 2003.

WEAVER I.C.; CERVONI N.; CHAMPAGNE F.A.; D'ALESSIO A.C.; SHARMA S.; SECKL J.R.; DYMOV S.; SZYF M.; MEANEY M.J. Epigenetic programming by maternal behavior. **Nat Neurosci**, v.7, 847-854, 2004.

WELLEN K.E.; HOTAMISLIGIL, G.S. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. **J. Clin. Invest**, v.112, p.1785-1788, 2003.

WHAYNE T.F. Epigenetics in the development, modification, and prevention of cardiovascular disease. **Mol Biol Rep**, sep. 2014.

WOLFFE A.P.; GUSCHIN D. Review: chromatin structural features and targets that regulate transcription. **J Struct Biol**, v.129, p.102-122, 2000.

XU X.; YING Z.; CAI M.; XU Z.; LI Y.; JIANG S.Y.; TZAN K.; WANG A.; PARTHASARATHY S.; HE G.; RAJAGOPALAN S.; SUN Q. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.300, n.5, p.R1115-R1125, 2011.

YANG, H.; ZHAO, L.; ZHANG, J.; TANG, C.S.; QI Y.F.; ZHANG, J. Effect of Treadmill Running on Apelin and APJ Expression in Adipose Tissue and Skeletal Muscle in Rats Fed a High-fat Diet. **International Journal of Sports Medicine**, 2015.

YU Z.; SUN L.; QI Q. et al. Hypertriglyceridemic waist, cytokines and hyperglycaemia in Chinese, **Eur. J. Clin. Invest**, v.42, p.1100-1111, 2012.

ZENG H.; IRWIN M.L.; LU L.; RISCH H.; MAYNE S.; MU L.; DENG Q.; SCARAMPI L.; MITIDIERI M.; KATSAROS D.; YU H. Physical activity and breast cancer survival: an epigenetic link through reduced methylation of a tumor suppressor gene L3MBTL1. **Breast Cancer Res Treat**, v.133, p.127-135, 2012.

ZHANG F.F.; CARDARELLI R.; J CARROLL J.; S ZHANG S.; FULDA KG. Physical activity and global genomic DNA methylation in a cancer-free population. **Epigenetics**, v.6, n.3, p.293-9, 2011.

ZHANG Y.; PROENCA R.; MAFFEI M.; BARONE M.; LEOPOLD L.; FRIEDMAN J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v.372, p.425-432, 1994.

ZHAO J.; TIAN Y.; XU J.; LIU D.; WANG X.; ZHAO B. Endurance exercise is a leptin signaling mimetic in hypothalamus of Wistar rats. **Lipids Health Dis**, v.10, dec. n.225, 2011.

ZOU C.; SHAO J. Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. **J Nutr Biochem**, v.19, n.5, p.277-86, 2008.

8 ANEXOS

ANEXO A



Universidade Estadual de Maringá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação



Parecer emitido após reunião realizada em: 3/10/2013

Parecer nº 141/2013

Pesquisador: Solange Marta Franzol de Moraes		Setor: DFS
Título:		Protocolo nº 072/2013
Adiposidade de prole de animais treinados.		
Entrada: 19/8/2013	Início: 1/10/2013	Término: 30/12/2014
Situação do Projeto: Aprovado		
Relatório Final: ATENÇÃO: este parecer, quando a situação do projeto constar "aprovado", autoriza os proponentes a executarem o protocolo em questão. O certificado será emitido após apreciação do relatório final.		
Considerações e Parecer:		
A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UEM), na sua reunião de 03/10/2013, APROVOU os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo, na forma do artigo 10, inciso I, da Resolução UEM no 032/2006-CEP, vez que não se constatam óbices legais para o desenvolvimento dos procedimentos experimentais nos moldes propostos pelo(a) pesquisador(a).		
		
<p>Prof. Dr. Alexandre Ribas de Paulo, Presidente do CEAE</p>		

Artigo 10 da Resolução nº 032/2006-CEP: Os projetos analisados serão enquadrados em uma das seguintes categorias:
I - aprovado;
II - pendente, quando o CEAE considerar o protocolo e o projeto como aceitáveis, porém com problemas no protocolo, no projeto ou em ambos, e houver recomendação de uma revisão específica, ou solicitação de modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em até 60 dias, após o recebimento da comunicação, pelo coordenador do projeto;
III - arquivado, quando o protocolo permanecer pendente, transcorridos 30 dias, após o prazo previsto no inciso II do recebimento da comunicação;
IV - não aprovado

www.ppg.uem.br - e-mail: oeea@uem.br

ANEXO B

PROTOCOLO TREINAMENTO CAMUNDONGO - KM/H						
ADAPTAÇÃO						
VELOCIDADE = 0,8 KM/H (~ 50% DA V PICO)						
	DURAÇÃO	AQUECIMENTO	TREINO	VOLTA A CALMA		
SEGUNDA	30'	-	0.3 / 10'	0.8 / 10'	0.6 / 10'	-
TERÇA	30'	-	0.3 / 10'	0.8 / 10'	0.6 / 10'	-
QUARTA	30'	-	0.3 / 10'	0.8 / 10'	0.6 / 10'	-
QUINTA	30'	-	0.3 / 10'	0.8 / 10'	0.6 / 10'	-
SEXTA	30'	-	0.3 / 10'	0.8 / 10'	0.6 / 10'	-
SEMANA 1						
VELOCIDADE = 1.1 KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	30'	0,5 / 5'	0.7 / 5'	1.1 / 10'	0.7 / 5'	0.5 / 5'
TERÇA	30'	0,5 / 5'	0.7 / 5'	1.1 / 10'	0.7 / 5'	0.5 / 5'
QUARTA	35'	0,5 / 5'	0.7 / 5'	1.1 / 15'	0.7 / 5'	0.5 / 5'
QUINTA	35'	0,5 / 5'	0.7 / 5'	1.1 / 15'	0.7 / 5'	0.5 / 5'
SEXTA	40'	0,5 / 5'	0.7 / 5'	1.1 / 20'	0.7 / 5'	0.5 / 5'
SEMANA 2						
VELOCIDADE= 1.2 KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	35'	0.6 / 5'	0.7 / 5'	1.2 / 15'	0.7 / 5'	0.6 / 5'
TERÇA	40'	0.6 / 5'	0.7 / 5'	1.2 / 20'	0.7 / 5'	0.6 / 5'
QUARTA	45'	0.6 / 5'	0.7 / 5'	1.2 / 25'	0.7 / 5'	0.6 / 5'
QUINTA	45'	0.6 / 5'	0.7 / 5'	1.2 / 25'	0.7 / 5'	0.6 / 5'
SEXTA	50'	0.6 / 5'	0.7 / 5'	1.2 / 30'	0.7 / 5'	0.6 / 5'
SEMANA 3						
VELOCIDADE=1,7 KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	50'	0.8 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 30'	1.0 / 5'	0.8 / 5'
TERÇA	55'	0.8 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 35'	1.0 / 5'	0.8 / 5'
QUARTA	60'	0.8 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	1.0 / 5'	0.8 / 5'
QUINTA	60'	0.8 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	1.0 / 5'	0.8 / 5'
SEXTA	60'	0.8 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	1.0 / 5'	0.8 / 5'
SEMANA 4						
VELOCIDADE=KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	60'	0.9 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	0.9 / 5'	1.0 / 5'
TERÇA	60'	0.9 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	0.9 / 5'	1.0 / 5'
QUARTA	60'	0.9 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	0.9 / 5'	1.0 / 5'
QUINTA	60'	0.9 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	0.9 / 5'	1.0 / 5'
SEXTA	60'	0.9 / 5'	1.0 / 5'	1.7 / 40'	0.9 / 5'	1.0 / 5'
SEMANA 5						
VELOCIDADE=KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	60'	0.9 / 5'	1.1 / 10'	1.9 / 30'	1.1 / 10'	0.9 / 5'
TERÇA	60'	0.9 / 5'	1.1 / 10'	1.9 / 30'	1.1 / 10'	0.9 / 5'
QUARTA	60'	0.9 / 5'	1.1 / 10'	1.9 / 30'	1.1 / 10'	0.9 / 5'
QUINTA	60'	0.9 / 5'	1.1 / 10'	1.9 / 35'	1.1 / 5'	0.9 / 5'
SEXTA	60'	0.9 / 5'	1.1 / 10'	1.9 / 35'	1.1 / 5'	0.9 / 5'
SEMANA 6						
VELOCIDADE= KM/H (~ 75% DA V PICO)						
SEGUNDA	60'	1.0 / 5'	1.2 / 10'	2.0 / 35'	1.2 / 5'	1.0 / 5'
TERÇA	60'	1.0 / 5'	1.2 / 5'	2.0 / 40'	1.2 / 5'	1.0 / 5'
QUARTA	60'	1.0 / 5'	1.2 / 5'	2.0 / 40'	1.2 / 5'	1.0 / 5'
QUINTA	60'	1.0 / 5'	1.2 / 5'	2.0 / 40'	1.2 / 5'	1.0 / 5'
SEXTA	60'	1.0 / 5'	1.2 / 5'	2.0 / 40'	1.2 / 5'	1.0 / 5'