

RENATA BESERRA PEREIRA DA SILVA

EFEITO DA ATIVIDADE FÍSICA VOLUNTÁRIA ANTES E  
DURANTE A GESTAÇÃO SOBRE O PESO CORPORAL,  
CONSUMO ALIMENTAR E GLICEMIA DE RATAS  
GESTANTES SUBMETIDAS OU NÃO À DESNUTRIÇÃO

RECIFE

2014

Renata Beserra Pereira da Silva

Efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação  
sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas  
gestantes submetidas ou não à desnutrição

RECIFE

2014

Renata Beserra Pereira da Silva

Efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação  
sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas  
gestantes submetidas ou não à desnutrição

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Nutrição do  
Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal de  
Pernambuco, para obtenção do título  
de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Carol Virginia  
Góis Leandro, Professora Adjunta IV  
do Centro Acadêmico de Vitória de  
Santo Antão da UFPE

RECIFE  
2014

Ficha catalográfica elaborada pela

Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586e Silva, Renata Beserra Pereira da.

Efeito da atividade física voluntária antes e Durante a gestação sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição / Renata Beserra Pereira da Silva. – Recife: O autor, 2014.

137 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Carol Virginia Góis Leandro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014. Inclui referências e anexos.

1. Plasticidade fenotípica. 2. Desnutrição. 3. Exercício voluntário. 4. Gestação. 5. Ratos. I. Leandro, Carol Virginia Góis (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-127)

Renata Beserra Pereira da Silva

Efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação  
sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas  
gestantes submetidas ou não à desnutrição

Dissertação aprovada em: 27 de fevereiro de 2014

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabeth do Nascimento (Departamento de Nutrição – UFPE)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel da Silva Aragão (Núcleo de Educação Física e Ciências  
do Esporte – CAV – UFPE)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisélia de Santana Muniz (Departamento de Nutrição – UPE)

RECIFE

2014

*Dedico esse trabalho a minha grande família, especialmente aos meus pais, Adauto e Luciene, e aos meus irmãos, Rodrigo e Renan, pelo amor, incentivo e ensinamentos. De alguma forma nos completamos, aflorando o que há de melhor em cada um.*

*Amo vocês!*

## AGRADECIMENTOS

*Os agradecimentos são muitos, pois o mestrado não representou apenas uma formação com titulação de mestre, foi além das minhas expectativas. A experiência do mestrado me permitiu adquirir grande conhecimento na área, além de me proporcionar o convívio com pessoas fantásticas, das quais irei guardar sempre no peito. Claro que nem sempre foram “flores”; existiram momentos difíceis, exaustivos e de discussões. Porém, faria tudo de novo, pois me fez conhecer uma força da qual não conhecia em mim e me condicionou a uma rotina de estudo, responsabilidade e paciência. Sendo assim, os agradecimentos são:*

*Ao Deus, por me permitir passar por grandes experiências e por representar minha fortaleza.*

*À professora Carol, esta que não consigo chamar de outra forma, pois sempre será minha mestra. Obrigada por me aceitar como orientanda, pela paciência, por acreditar em mim e por todos os ensinamentos. Ensinamentos no âmbito profissional, estes foram muitos; e ensinamentos para a vida, quanto ser humano. “De espírito aberto”!*

*À Gisélia, por ter o coração enorme e disposição de compartilhar seus conhecimentos comigo. Muito grata pelas orientações e ensinamentos de laboratório. Quando a professora Carol sugeriu trabalharmos juntas, não fazia ideia que dali sairia uma relação tão bacana e importante para mim. Por mais que as circunstâncias da vida nos separem, está sempre no meu coração.*

À Jéssica, minha irmãzinha querida. Começamos a trabalhar como duas desconhecidas e nos tornamos grandes amigas e parceiras. Obrigada pela ajuda incondicional, pela sua leveza e simplicidade.

Ao Antônio, Adriano e Diórginis grandes amigos e colegas de trabalho. Obrigada por cada orientação dada, pelos “quebra galhos”; vocês são inspiradores.

Ao Marco Fidalgo, grande influenciador para minha formação quanto mestre. Foi a primeira pessoa que me indagou “porque não fará o mestrado?”. Obrigada por seus ensinamentos e apoio.

Aos melhores estagiários do mundo, Giselle, Allan e Gerffeson. Como sempre dizia: “vocês foram fundamentais para a realização desse trabalho”. Obrigada meninos! Obrigada pela dedicação, compreensão e responsabilidade.

Aos demais companheiros de mestrado que construíram comigo essa história: Cinthia, Maria Claudia, Sueli, Marcelus, Marcos, Madge, Mario Tchamo, Fellipe, Raquel, Kelli, Cristian, Iberê, Zé Luiz, Cássia e Luana.

Às professoras Graça e Deyse pelo apoio e orientações.

Aos meus colegas de sala, Érika, Natália, Marília, Jacqueline, Laércio, Caroline, Julliet, Daniella, Daniely, Kiko, Bruna e Vilma. Obrigada pela força em cada etapa do mestrado. Nossa turma não poderia ter sido melhor, turma de alto nível formada por pessoas de coração nobre.

Aos meus amigos, Daniele, Candeias, Lúiza, Maria Izabel, Marcelle, Annanda, Rayane, Érika, Daélia, Raiana, Júlio, Rafael, Marcelo, Leonardo e Fernando, pelo apoio e por me ajudar a desopilar quando precisei. Obrigada pela amizade e por me fazer mais leve.

*Ao Raul, pelo incentivo para sempre buscar a excelência.*

*À professora Beth, pelos ensinamentos, orientações e por ceder seu biotério para os experimentos.*

*Ao Sr. França e Sr. Cláudio, pelo auxílio no cuidado com os animais.*

*À Neci e Cecília pela atenção e paciência.*

*À Lúcia e Fernanda pelo auxílio.*

*"Os que desprezam os pequenos acontecimentos nunca farão grandes descobertas.*

*Pequenos momentos mudam grandes rotas."*

*Augusto Cury*

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição. Ratas *wistar* (n=20) foram alocadas em gaiolas de AFV por um período de adaptação de 30 dias. Ao final desse período, as ratas foram classificadas em inativas (I, n=10) e muito ativas (MA, n=10), de acordo com a distância percorrida (km/dia), o tempo (minutos/dia) e o gasto calórico estimado (kcal). Após confirmação da prenhez, metade de cada grupo passou a receber dieta hipoprotéica isocalórica: inativa-nutrida (I-N, n=5), inativa-desnutrida (I-D, n=5), muito ativa-nutrida (MA-N, n=5) e muito ativa-desnutrida (MA-D, n=5). As ratas foram avaliadas quanto ao peso corporal, ganho de peso corporal (gramas e percentagem), consumo alimentar e glicemia de jejum. Durante a adaptação, o grupo MA apresentou menor peso corporal, porém maior consumo alimentar comparado ao grupo I. No período da gestação, os grupos MA-N e MA-D apresentaram maior peso corporal e consumo alimentar quando comparados aos grupos I-N e I-D. Não houve diferença entre os grupos com relação à glicemia de jejum. Com relação aos filhotes, as ninhadas de ratas MA-N e MA-D apresentaram maior peso ao nascer comparativamente aos seus pares, I-N e I-D. O estilo de vida materno ativo pré-gestacional é capaz de aumentar o consumo alimentar, ganho de peso corporal de ratas gestantes desnutridas e consequentemente maior investimento na prole.

**Palavras-chave:** Plasticidade fenotípica. Desnutrição. Exercício voluntário. Gestação. Ratos.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of voluntary physical activity (VPA) before and during pregnancy on body weight, food intake and fasting glucose of rats submitted to low-protein diet during gestation. Female Wistar rats (n = 20) were placed in cages VPA during a period of 30 days for adaptation. After this period, the rats were classified as inactive (I, n = 10) and very active (MA, n = 10), according to the distance (km/day), time (minute/day) and estimated caloric expenditure (kcal). After confirmation of pregnancy, half of each group received an isocaloric low-protein diet and 4 groups were formed: inactive nourished (I-N, n = 5), inactive + low-protein diet (I-D, n = 5), very active - nourished (MA-N, n = 5) and very active + low-protein diet (MA-D, n = 5). Body weight, gain of body weight (grams and percentage), food consumption and fasting glycaemia were evaluated. During the adaptation, MA group showed lower body weight, but higher food intake than rats from I group. During pregnancy, MA-N and MA-D groups showed higher body weight and food consumption than their pairs I-N and I-D. There was no difference between groups in relation to fasting glycaemia. Litters from MA-N and MA-D rats showed higher body weight than litters from I-N and I-D rats. The maternal life style was able to increase the food intake and body weight gain of pregnant rats submitted to a low-protein diet and consequently greater investment in offspring.

**Keywords:** phenotypic plasticity. Low protein diet. Voluntary exercise. Pregnancy. Rats.

## SUMÁRIO

<b>1- Apresentação.....</b>	13
<b>2-Revisão da literatura-Artigo de revisão .....</b>	18
<b>3-Objetivos .....</b>	19
<b>4-Hipótese .....</b>	20
<b>5-Métodos.....</b>	21
5.1-Animais.....	21
5.2-Protocolo de atividade física voluntária para ratas .....	22
5.2.1- <i>Determinação do nível de atividade física</i> .....	23
5.3-Dietas experimentais .....	24
5.4- Grupos experimentais.....	25
5.5- Avaliação de evolução ponderal .....	25
5.6- Avaliação de consumo alimentar .....	26
5.7- Glicemia de jejum .....	26
5.8- Dados do parto .....	26
5.9- Análise estatística.....	27
<b>6-Resultados .....</b>	28
<b>7- Discussão .....</b>	51
<b>8- Considerações finais e perspectivas.....</b>	57
<b>Referências .....</b>	58
<b>Anexos .....</b>	64

## **1. APRESENTAÇÃO**

---

O período perinatal, que inclui desde a concepção até a lactação, é considerado crítico para o desenvolvimento de órgãos e sistemas (MORGANE *et al.*, 1993). A proliferação e diferenciação celular acelerada nesse período torna o organismo mais vulnerável às perturbações ambientais (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). Em virtude da alta plasticidade nesse estágio da vida, o organismo pode reagir a esses desafios impostos pelo ambiente, alterando seu desenvolvimento (WEST-EBERHARD, 2003).

O organismo materno é o primeiro nicho ambiental do feto e as experiências ambientais vividas pela mãe no curso da vida podem provocar alterações fenotípicas que irão influenciar no desenvolvimento da prole (MOUSSEAU e FOX, 1998; WELLS, 2010). Estudos com humanos tem demonstrado uma associação inversa da estatura materna com a mortalidade da prole, enquanto o maior peso corporal materno tem sido relacionado com o aumento de sua taxa de fertilidade (SEAR, MACE e MCGREGOR, 2003; SUBRAMANIAN *et al.*, 2009). Dessa maneira, os traços fenotípicos que refletem a boa aptidão física da gestante parecem estar associados com maior capacidade de reprodução e investimento diferenciado nos seus filhos (WELLS, 2010).

Uma das variações ambientais mais bem documentadas no estudo de alterações fenotípicas é a privação nutricional durante a gestação e lactação, tanto em humanos como em modelos experimentais (RAVELLI, STEIN e SUSSER, 1976; OZANNE *et al.*, 2005; LANGLEY-EVANS *et al.*, 2011; LEANDRO *et al.*, 2012b). Phillips *et al.*, (2005) estudaram homens e mulheres, cujas mães passaram fome durante a gestação entre os anos de 1931-1939. Os autores observaram que a desnutrição ocorrida no período perinatal resultou em baixo peso ao nascer e menor peso no primeiro ano de

vida dos filhos (HALES *et al.*, 1991; PHILLIPS *et al.*, 2005). Em estudos com animais, nosso grupo tem utilizado um modelo de dieta isocalórica normoprotéica (17-25% de proteína, caseína) para o grupo controle e isocalórica hipoprotéica (5%-9% de proteína, caseína) para os grupos experimentais (LOPES DE SOUZA *et al.*, 2008; OROZCO-SOLIS *et al.*, 2008). Nossos resultados demonstraram que a desnutrição protéica perinatal resultou em menor peso corporal, redução na secreção de insulina por ilhotas isoladas e menor consumo de oxigênio nas mães quando comparadas ao grupo controle (AMORIM *et al.*, 2009; LEANDRO *et al.*, 2012b). Nos filhotes de mães desnutridas foram observados menor peso da ninhada, peso ao nascer, peso corporal nos três primeiros dias de vida, atraso na trajetória de crescimento e no desenvolvimento do sistema nervoso (AMORIM *et al.*, 2009; FALCAO-TEBAS *et al.*, 2012; FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012; LEANDRO *et al.*, 2012b).

Outra variação ambiental que parece induzir adaptações morfológicas e fisiológicas na mãe e no feto é a atividade física (LEANDRO *et al.*, 2009; FIDALGO; *et al.*, 2010; FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012). De acordo com o American College of Obstetricians and Gynecologists (2002), gestantes de baixo risco podem praticar exercício físico de leve a moderado por cerca de 30min/dia, na maioria dos dias da semana. Esse estilo de vida materno ativo está associado a uma melhor função cardiovascular, redução de diabetes mellitus gestacional e hipertensão gestacional, ganho de peso limitado, e diminuição de desconforto músculo-esquelético (MELZER *et al.*, 2010). Na prole, foi observado aumento da densidade de vilosidades na placenta, melhor aporte de nutrientes e oxigênio e avançada maturação neurocomportamental (CLAPP *et al.*, 2002; CLAPP, 2003; MELZER *et al.*, 2010).

A intensidade do esforço parece ser determinante quando se estuda a relação entre atividade física durante a gestação e as repercuções na prole (CLAPP, 2003). Estudos realizados em comunidades rurais da Índia demonstraram que a extrema carga de trabalho está inversamente associada ao peso ao nascer, além de favorecer o aborto (RAO *et al.*, 2003; DWARKANATH *et al.*, 2007). Por outro lado, a atividade física de intensidade leve está relacionada ao aumento do peso ao nascer, mesmo em mulheres que passaram por privação nutricional (CLAPP, 2006).

Nosso grupo padronizou um protocolo de treinamento físico de intensidade moderada para ratas, realizado em esteira antes da gestação (5 dias/semana, 60 min/dia, a 65% do  $VO_{2\max}$ ), com intensidade diminuída durante a gestação (cinco dias/semana, 30 min/dia, a 40% do  $VO_{2\max}$ ) (AMORIM *et al.*, 2009). Nossos resultados demonstraram que ratas desnutridas que praticaram exercício físico diariamente, apresentaram menor queda no consumo de oxigênio de repouso e maior peso corporal quando comparadas às ratas desnutridas não-treinadas (AMORIM *et al.*, 2009; FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012). Nos filhotes de ratas desnutridas treinadas foram observados melhores níveis séricos de glicose, de colesterol e de taxa de crescimento somático (AMORIM *et al.*, 2009; FALCÃO-TEBAS *et al.*, 2012).

Mais recentemente, o nosso grupo padronizou um protocolo de atividade física voluntária para ratas gestantes (SANTANA *et al.*, 2014). O termo atividade física voluntária pode ser definido como qualquer movimento do músculo esquelético que demande gasto energético acima do metabolismo basal e que não esteja relacionada com a sobrevivência ou diretamente motivada por qualquer fator externo (GARLAND *et al.*, 2011). Em animais, a auto-motivação para o exercício voluntário pode ser medido pelo cicloergômetro (GARLAND *et al.*, 2011). No nosso estudo para padronização da atividade física voluntária, as ratas foram classificadas como inativas (I), ativas (A) e

muito ativas (MA) (SANTANA *et al.*, 2014). Durante o período de adaptação (30 dias prévios ao acasalamento), o nível de atividade física das ratas foi determinado pela distância percorrida (km/dia), gasto calórico estimado (kcal/s/dia) e tempo diário (minutos/dia) [tabela 1] (SANTANA *et al.*, 2014).

**Tabela 1:** Classificação dos grupos experimentais de acordo com a atividade física diária (distância percorrida, gasto calórico e tempo) no cicloergômetro seguindo o protocolo de Santana et al (2014).

Grupos experimentais	Distância percorrida (Km.dia <sup>-1</sup> )	Gasto Calórico estimado (Km.s <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	Tempo (min.dia <sup>-1</sup> )
Inativo	< 1.0	< 10.0	< 20.0
Ativo	>1.0< 5.0	>10.0< 40.0	>20.0< 120.0
Muito Ativo	>5.0	>40.0	>120.0

Os valores dessas grandezas foram definidos através de uma curva de distribuição normal e pelo desvio padrão como ponto de corte (SANTANA *et al.*, 2014). Foi observado que o fenótipo materno para o nível de atividade física se estabeleceu antes do acasalamento (SANTANA *et al.*, 2014). As ratas MA apresentaram menor peso corporal, embora tenham consumido mais ração quando comparadas às ratas I e A (SANTANA *et al.*, 2014). Em consequência de tal experiência materna, especialmente a prole do grupo MA apresentou antecipação da trajetória de crescimento (SANTANA *et al.*, 2014).

Os protocolos de treinamento físico de intensidade leve a moderada durante a gestação parece melhorar a aptidão física materna, modulando os efeitos da desnutrição sobre os descendentes (LEANDRO *et al.*, 2009). Contudo, nos protocolos de treinamento físico, as ratas são obrigadas a seguir um regime diário de exercício o que impede o estudo da influência do ambiente e de fatores genéticos no estabelecimento do

fenótipo. Por outro lado, o efeito da atividade física voluntária materna associado à desnutrição protéica pode trazer novos insights sobre a plasticidade do organismo em relação aos desafios ambientais. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição. Nossa hipótese é que atividade física voluntária antes e durante a gestação aumenta o peso corporal, consumo alimentar e diminui glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição. O presente estudo poderá servir como base para estudos posteriores na melhor compreensão da plasticidade fenotípica e da relação mãe-filho.

## **2.REVISÃO DA LITERATURA-Artigo de Revisão**

---

Artigo submetido à Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil (RBSMI, qualis B2)

[Anexo 1].

### **3. OBJETVOS**

---

#### **3.1. Objetivo Geral:**

Avaliar o efeito da atividade física voluntária antes e durante a gestação sobre o peso corporal, consumo alimentar e glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição.

#### **3.2. Objetivos Específicos:**

Durante o período de adaptação:

- Estabelecer o nível de atividade física voluntária de ratas;
- Descrever o padrão diário de atividade física voluntária de ratas;
- Avaliar o efeito da atividade física voluntária sobre o peso corporal, ingestão alimentar e glicemia de jejum de ratas.

Durante o período de gestação:

- Estabelecer o nível de atividade física voluntária de ratas;
- Descrever o padrão diário de atividade física voluntária de ratas;
- Avaliar o efeito da atividade física voluntária sobre o peso corporal, ingestão alimentar e glicemia de jejum de ratas submetidas ou não à desnutrição.
- Avaliar o peso ao nascer da ninhada e o número de filhotes nascidos por gênero.

#### **4. HIPÓTESE**

---

A atividade física voluntária antes e durante a gestação aumenta o peso corporal, consumo alimentar e diminui glicemia de ratas gestantes submetidas ou não à desnutrição.

## **5. MÉTODOS**

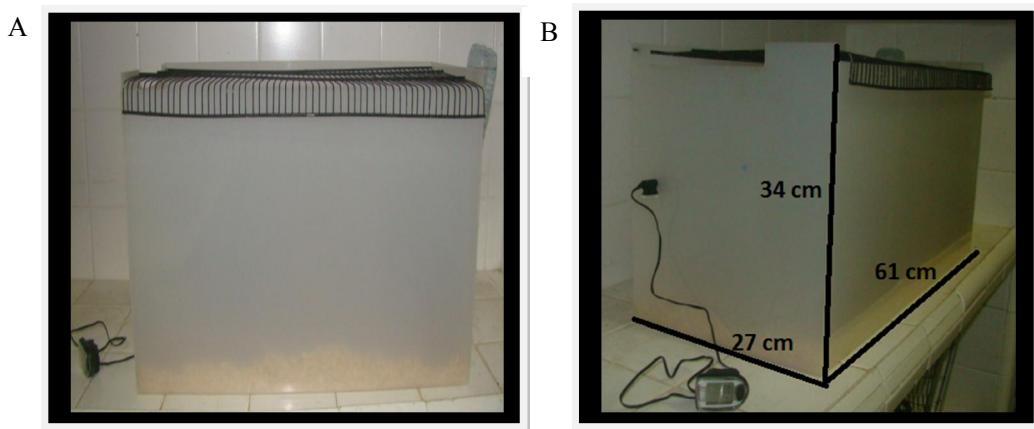
---

### **5.1 Animais**

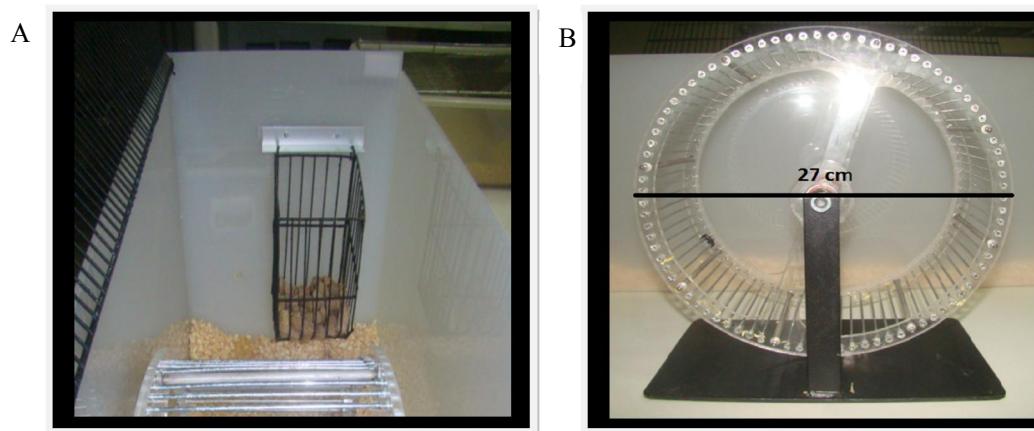
Foram utilizadas 20 ratas albinas da linhagem *Wistar* (peso corporal 220 - 260g,) provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. As ratas iniciaram o experimento no mesmo período do ciclo estral, no *proestrus*. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, com temperatura de  $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ , num ciclo 12/12h [claro (20:00 às 08:00 h) e escuro (08:00 às 20:00 h)]. As ratas nulíparas foram alojadas em gaiolas individuais de atividade física voluntária (AFV) (34x61x27 cm), com livre acesso à água e alimentação (dieta AIN-93-M) por 30 dias. Ao final desse período de adaptação, as ratas foram classificadas de acordo com o seu nível de atividade física seguindo o protocolo de Santana et al (2014). Posteriormente, as ratas foram colocadas em gaiola de polipropileno (33x40x17 cm) para o acasalamento e após a presença de espermatozoide na cavidade vaginal e ganho de peso, retornaram para suas respectivas gaiolas de AFV. Durante a gestação, metade do número de ratas em cada grupo recebeu dieta normoprotéica (AIN-93-G) enquanto a outra metade recebeu dieta hipoprotéica até o nascimento dos filhotes. Após o parto, os dados do nascimento foram registrados e as ninhadas foram utilizadas para outro experimento. O manejo e os cuidados com os animais seguiram as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animal do Centro de Ciência Biológicas da UFPE (processo nº23076.022745/2011-11) [anexo 2].

## 5.2 Protocolo de atividade física voluntária para ratas:

Foi elaborada uma gaiola de atividade física voluntária (GAFV) de acrílico com as seguintes dimensões: 27 cm de largura, 34 cm de altura e 61 cm de comprimento (Figura 1). Em uma das extremidades foi posicionado um cicloergômetro com 27 cm de diâmetro, composto por acrílico e raios em aço inoxidável (Figura 2). Um sistema de monitoramento por sensor (ciclocomputador Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan) foi acoplado à GAFV e ao cicloergômetro de forma a medir diariamente e a cada 2hs as seguintes grandezas físicas: distância percorrida (km), tempo (minutos), velocidade média (km/h) e estimativa do gasto calórico ( $\text{Km} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) (figura 3).



**Figura 1.**GAFV (A) e dimensões (B).



**Figura 2.** GAFV com cicloergômetro e comedouro (A) e cicloergômetro fora da GAFV (B)

### 5.2.1 Determinação do Nível de Atividade Física

O nível de atividade física das ratas foi determinado de acordo com o protocolo de Santana *et al* (2014) em inativo, ativo e muito ativo, através da distância percorrida, estimativa do gasto calórico e tempo diário durante o período de adaptação (Tabela 2).

**Tabela 2:** Classificação dos grupos de acordo com o nível de AFV (distância percorrida, gasto calórico e tempo) no cicloergômetro.

Grupos experimentais	Distância percorrida (Km.dia <sup>-1</sup> )	Gasto Calórico (Km.s <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	Tempo (min.dia <sup>-1</sup> )
Inativo	< 1.0	< 10.0	< 20.0
Ativo	>1.0< 5.0	>10.0< 40.0	>20.0< 120.0
Muito Ativo	>5.0	>40.0	>120.0

Santana *et al*, 2014



**Figura 3.** Sistema de funcionamento do ciclocomputador: ciclocomputador com os sensores [Cataye, model CC-VL810, Osaka, Japan] (A); posicionamento de um sensor na porção externa da GAFV, acoplado ao ciclocomputador (B); visão interna dos sensores, um acoplado ao cicloergômetro e outro a GAFV (C); rata realizando a atividade física (D).

### 5.3 Dietas Experimentais:

As dietas foram elaboradas de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES, 1997). Durante o período de adaptação, as ratas receberam dieta AIN-93M para a fase de manutenção dos roedores. Após o diagnóstico de gestação o grupo nutrido passou a consumir a dieta AIN-93G, enquanto o desnutrido recebeu a dieta hipoprotéica baseada na AIN-93-G até o parto (Tabela 3).

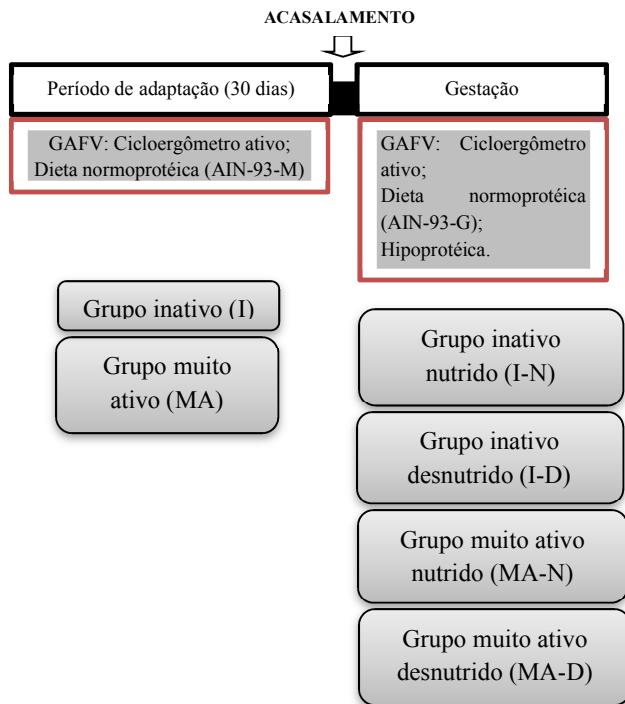
**Tabela 3.** Composição da dieta AIN-93G, AIN-93M e hipoprotéica.

Ingredientes	AIN-93G*	AIN-93M*	Hipoprotéica
	g\100g	g\100g	g\100g
Amido de Milho (87% carboidratos), g	39,74	46,47	47,62
Caseína (proteína $\geq 80\%$ ), g	20,00	14,10	9,41
Amido dextrinizado (92% tetrasaccharides), g	13,20	15,50	15,87
Sacarose, g	10,00	10,00	10,00
Óleo de soja, g	7,00	4,00	7,00
Celulose, g	5,00	5,00	5,00
Mix de Mineral (AIN-93G-MX), g	3,50	3,50	3,50
Mix de Vitaminas (AIN-93-VX), g	1,00	1,00	1,00
L-metionina, g	0,30	0,18	0,30
Bitartarato de colina (41,1% de colina), g	0,25	0,25	0,25
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ), g	0,014	0,008	0,014
Somatório, g	100	100,0	100,0
<b>Contribuição calórica dos macronutrientes</b>			
Energia total (cal/g)	3,56	3,44	3,56
Proteínas	18%	14%	8%
Lipídios	18%	11%	18%
Carboidratos	64%	75%	74%

\*Reeves, 199

#### 5.4 Grupos Experimentais

De acordo com o nível de atividade física (houve apenas ratas inativas e muito ativas) das ratas e manipulação dietética, foram formados os seguintes grupos experimentais:



**Figura 4.** Desenho experimental.

#### 5.5 Avaliação da Evolução Ponderal

A aferição do peso corporal foi realizada a cada três dias, iniciando no 1º dia até o 30º dia de adaptação. Após o diagnóstico de prenhez, as ratas continuaram sendo pesadas a cada três dias. O horário estabelecido para esta avaliação foi entre 5h30min e 6h00min. Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g).

O ganho de peso corporal foi calculado através das fórmulas:

- Ganho de peso corporal em gramas:  $GP = (\text{peso do dia} - \text{peso do dia anterior})$

- Ganho de peso corporal em percentagem:  $\%GP = (\text{peso do dia} \times 100/1^{\circ} \text{ dia}) - 100$

## 5.6 Avaliação do Consumo Alimentar

A ingestão de ração pelas ratas foi mensurada a cada três dias pela diferença entre a quantidade de alimento fornecido e a sobra de ração neste intervalo, obedecendo a seguinte fórmula:  $CA = RO - RR$  (LOPES DE SOUZA *et al.*, 2008).

$CA$  = consumo alimentar,  $RO$  = Ração oferecida e  $RR$  = Ração rejeitada

O consumo alimentar foi avaliado entre 06hs00min e 06hs30min da manhã. Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g).

## 5.7 Glicemia

Ao final do período de adaptação (30º dia) e no 3º, 7º, 14º e 20º dia da gestação, foi quantificada a glicemia após um jejum de 12hs. A coleta de sangue foi realizada às 6h da manhã do dia seguinte através de uma pequena incisão na cauda. O sangue foi depositado em fita teste e analisado através do glicosímetro, marca Accu Chek Active (Roche).

## 5.8 Dados do parto

Foram registrados os seguintes dados do parto: número de filhotes, peso da ninhada, média de peso dos filhotes, sexo dos filhotes e número de filhotes vivos e mortos.

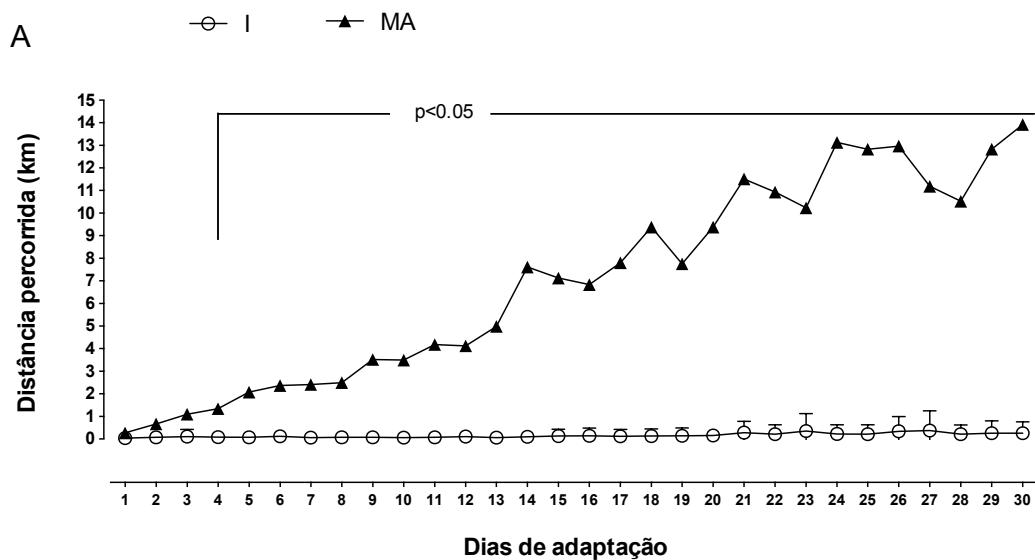
## 5.9 Análise Estatística

As medidas das ratas foram apresentadas como média  $\pm$  Erro Padrão da Média (EPM). Para a análise estatística, os dados foram analisados por ANOVA two-way seguido do teste Bonferroni's *post hoc*. Para os filhotes, os valores foram apresentados em média  $\pm$  EPM e mediana, mínimo e máximo, utilizando o teste one-way ANOVA e pós-teste Tukey. Significância foi estabelecida em  $P < 0,05$ . A análise dos dados foi realizada utilizando o programa estatístico GraphPad Prism 5 ® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

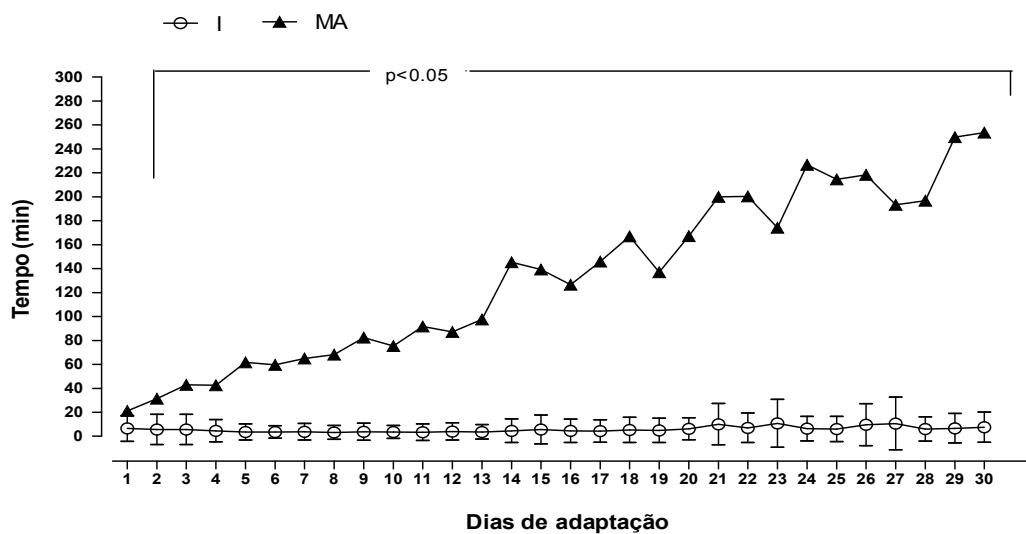
## 6. RESULTADOS

---

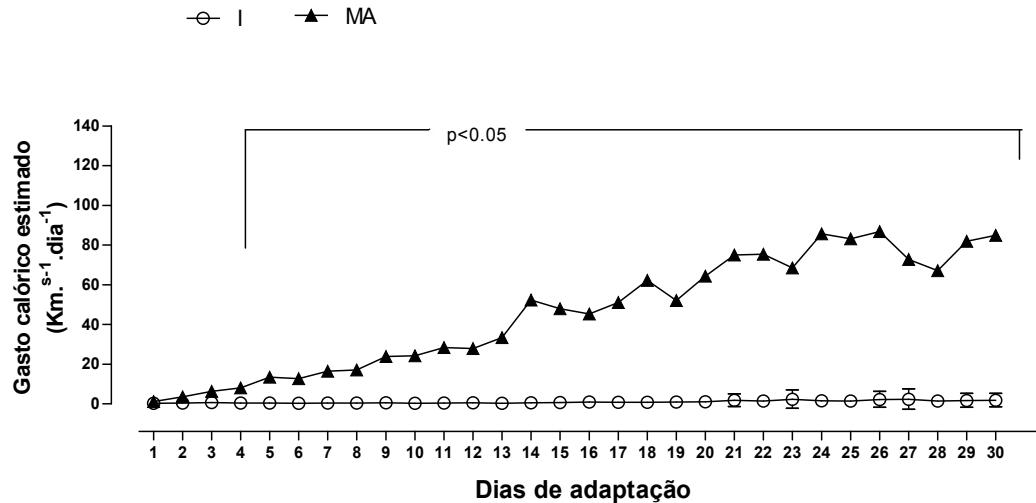
O nível de AFV de ratas durante o período de adaptação foi avaliado diariamente a partir da distância percorrida, o gasto calórico estimado, tempo e velocidade (Figura 5). O grupo MA apresentou um aumento progressivo da distância, do gasto calórico estimado, do tempo e da velocidade média durante o período de adaptação quando comparado ao grupo I (Figura 5A, B, C e D).

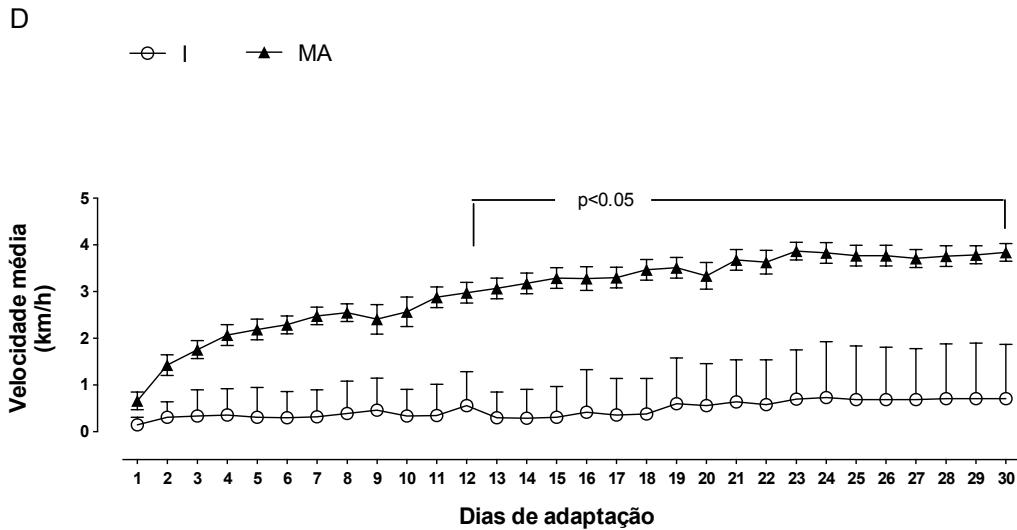


B



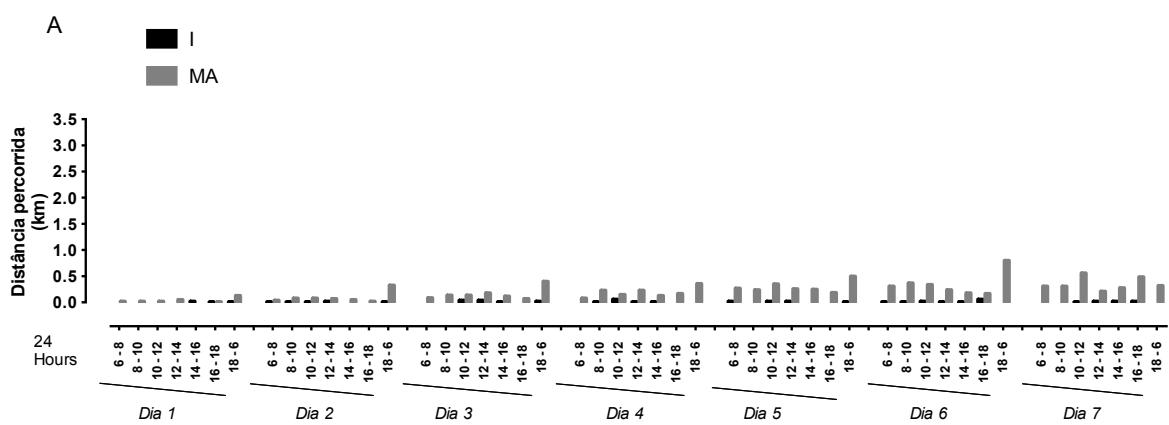
C

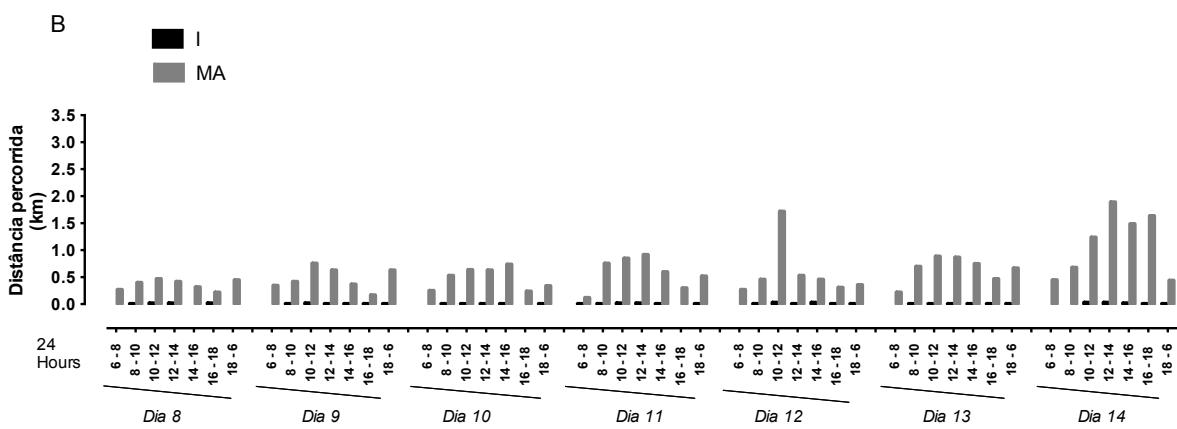


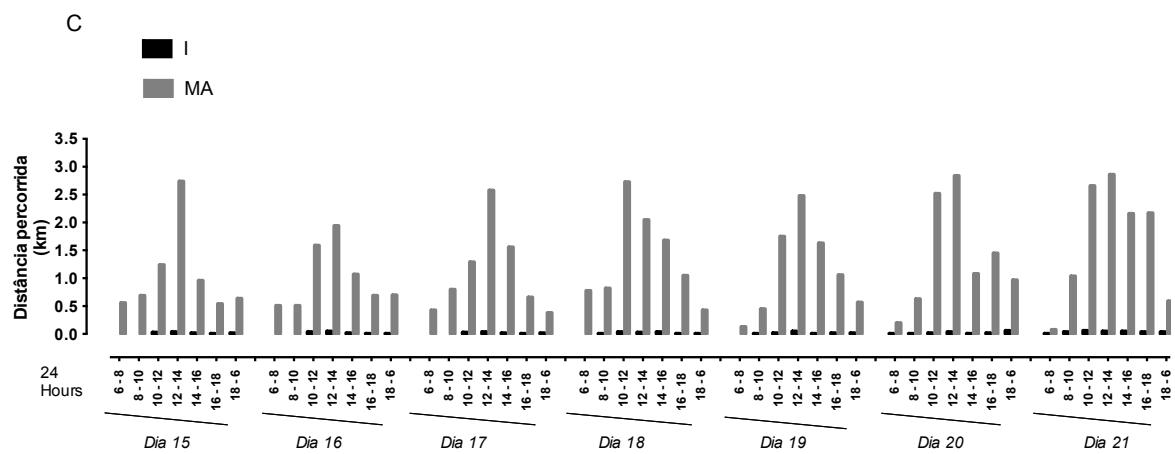


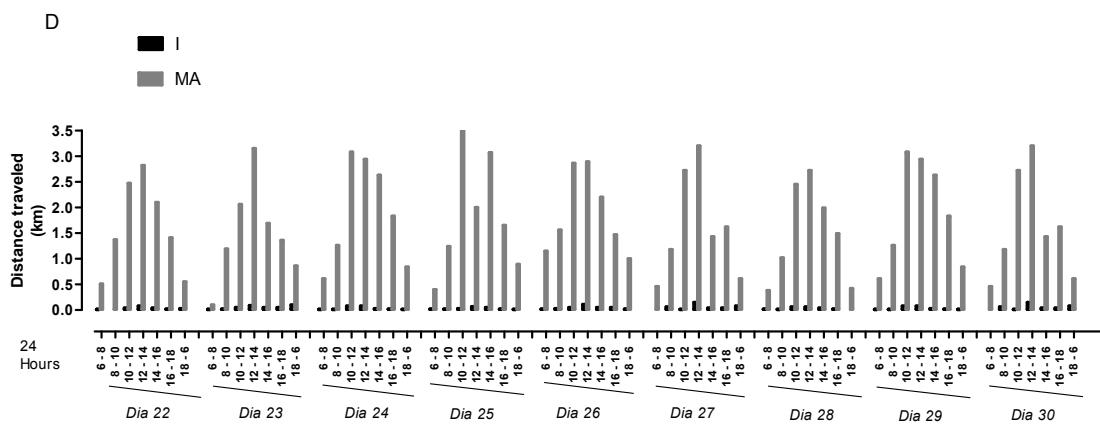
**Figura 5:** Distância percorrida em km (A), tempo em minutos (B), gasto calórico em kcal (C) e velocidade média em km/h (D) durante 30 dias de adaptação. Durante o período de adaptação, os grupos foram constituídos por inativo (I,  $n = 10$ ) e muito ativo (MA,  $n = 10$ ). Os valores são apresentados como médias + S.E.M.  $p < 0.05$  vs I, usando two-way ANOVA e pós-teste Bonferroni.

Durante o período de adaptação, a distância percorrida foi registrada a cada 2 horas a fim de estabelecer os hábitos de AFV das ratas (Figura 6). Nos primeiros dias de adaptação (Figura 6A), houve pouco acesso ao cicloergômetro, na segunda semana, as ratas do grupo MA começaram a demonstrar um maior nível de atividade física com padrão regularmente distribuído ao longo do ciclo escuro (6:00 - 18:00 hs) (Figura 6B). Nas duas últimas semanas, as ratas MA assumiram um padrão de atividade física, com preferência entre 12:00 - 14:00 hs (Figura 6C e D). Enquanto as ratas I permaneceram inativas durante todo o período de adaptação (Figura 6).



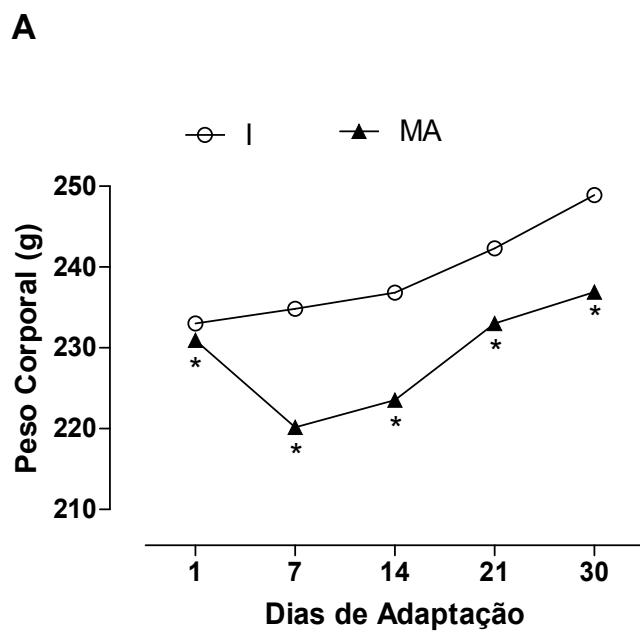


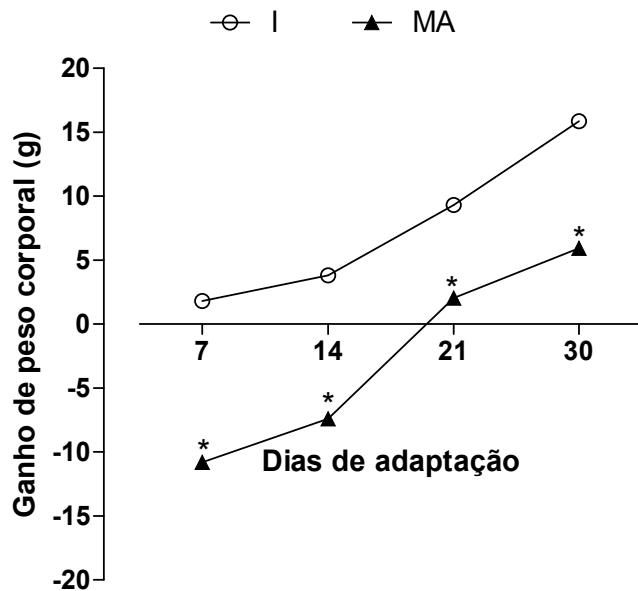
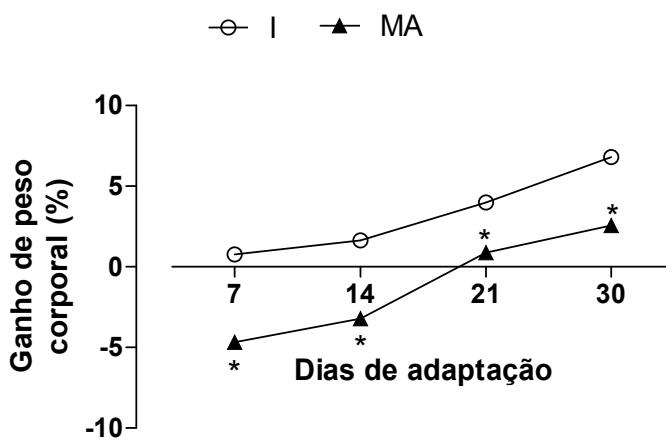




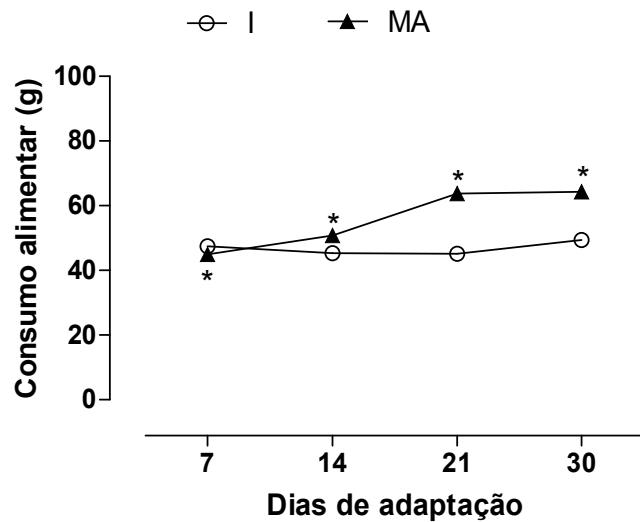
**Figure 6.** Distância percorrida diariamente (km) registrada a cada duas horas na adaptação. Primeira semana (A), segunda semana (B), Terceira semana (C) e quarta semana (D).

Durante a adaptação, foi ainda monitorado o efeito da atividade física sobre o peso corporal, ganho de peso corporal (em gramas e percentual) e a ingestão alimentar (Figura 7A, B, C e D). O grupo MA apresentou menor peso corporal (Figura 7A), assim como o ganho de peso corporal (gramas e percentual), os quais seguiram o mesmo perfil durante os 30 dias de adaptação quando comparado ao grupo I (Figura 7B e C). É interessante observar que embora as ratas MA tenham obtido menor ganho de peso corporal (Figura 7B e C), seu consumo alimentar foi maior a partir da segunda semana de adaptação quando comparadas as ratas I (Figura 7D).



**B****C**

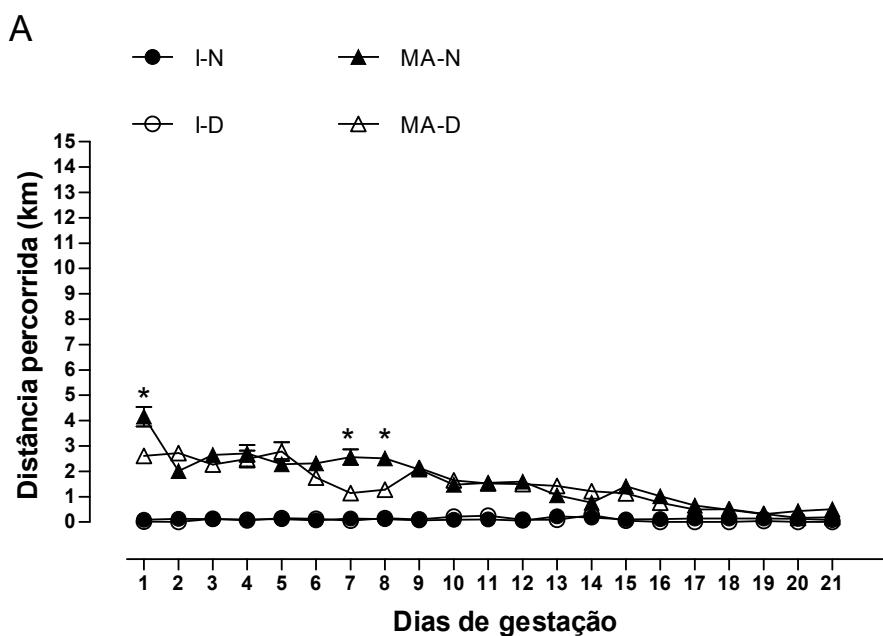
D



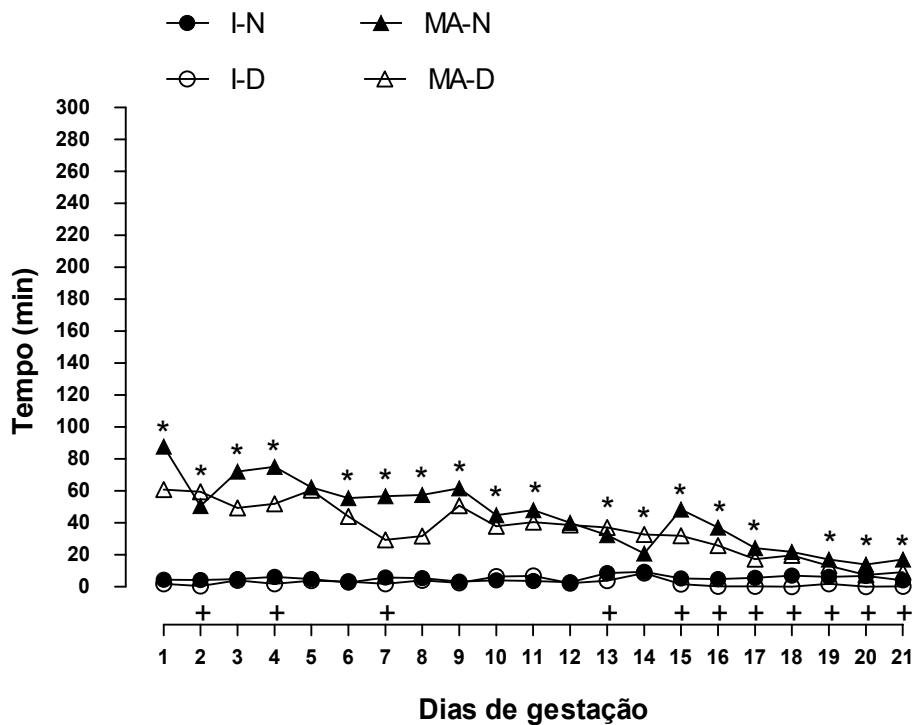
**Figure 7:** Peso corporal em gramas (A), ganho de peso corporal em gramas (B), ganho de peso corporal em percentagem (C) e consumo alimentar em gramas (D) durante 30 dias de adaptação. Durante o período de adaptação, os grupos foram constituídos por inativo (I,  $n = 10$ ) e muito ativo (MA,  $n = 10$ ). Os valores são apresentados como médias \*S.E.M.  $*p < 0.05$  vs I, usando two-way ANOVA e pós-teste Bonferroni.

No período da gestação, o acesso ao cicloergômetro permaneceu livre e metade do número dos animais em cada grupo recebeu dieta baixa em proteína (Figura 8A, B, C e D). Os grupos MA-N e MA-D apresentaram uma queda brusca no nível de atividade física, saindo da classificação de muito ativo para ativo nas duas primeiras semanas, e caindo para inativo no último terço de gestação (Figura 8A, B, C). Ambos os grupos demonstraram semelhante perfil de atividade física voluntária, embora o grupo MA-D tenha apresentado menor distância, tempo e gasto calórico em alguns dias na gestação comparado ao MA-N (Figura 8A, B e C). Quanto aos grupos I-N e I-D, estes

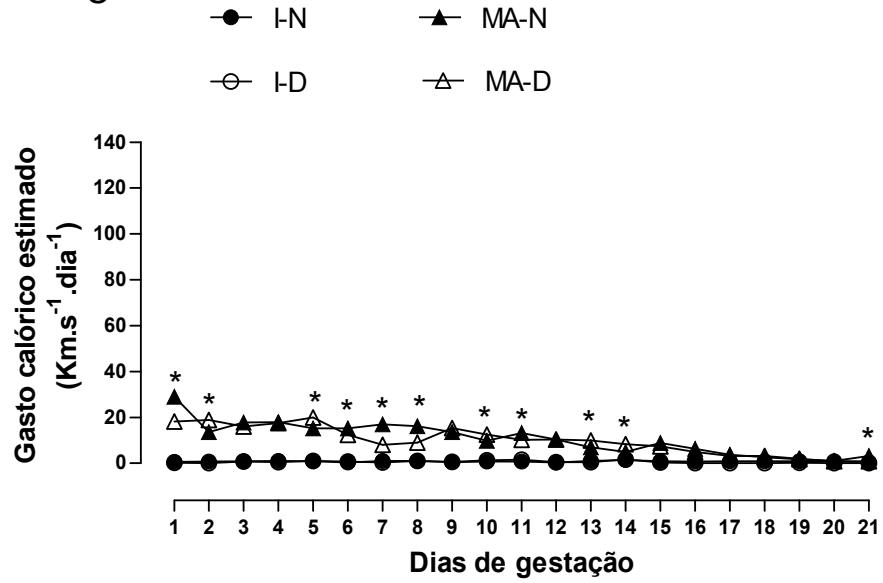
mantiveram-se inativos (Figura 9A, B, C e D), porém as ratas I-D apresentaram menor tempo de corrida, especialmente no final da gestação (Figura 8A, B e C). Embora as ratas MA tenham assumido outras classificações (ativo e inativo) no decorrer da gestação, o presente estudo manteve a nomenclatura estabelecida inicialmente na adaptação como MA.

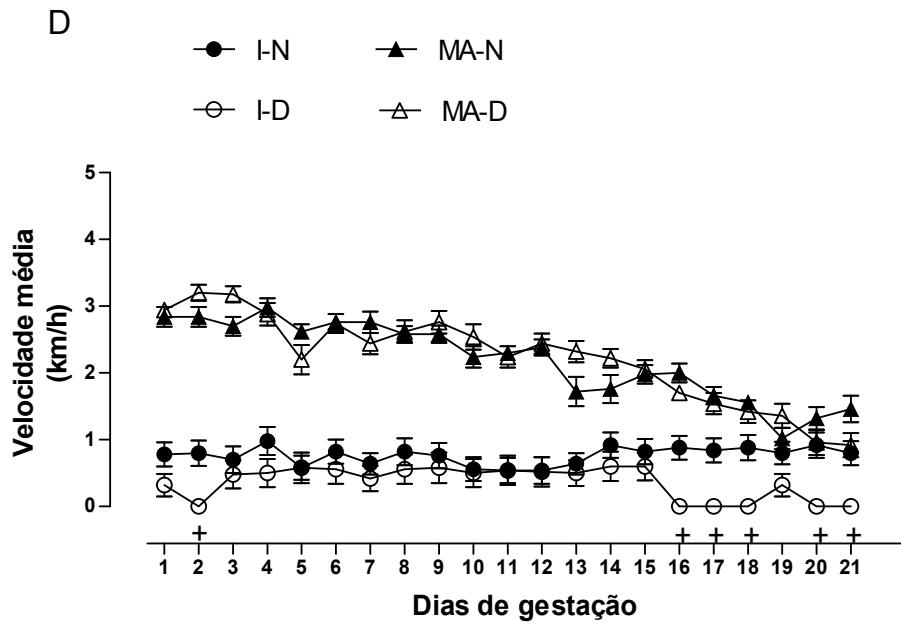


B

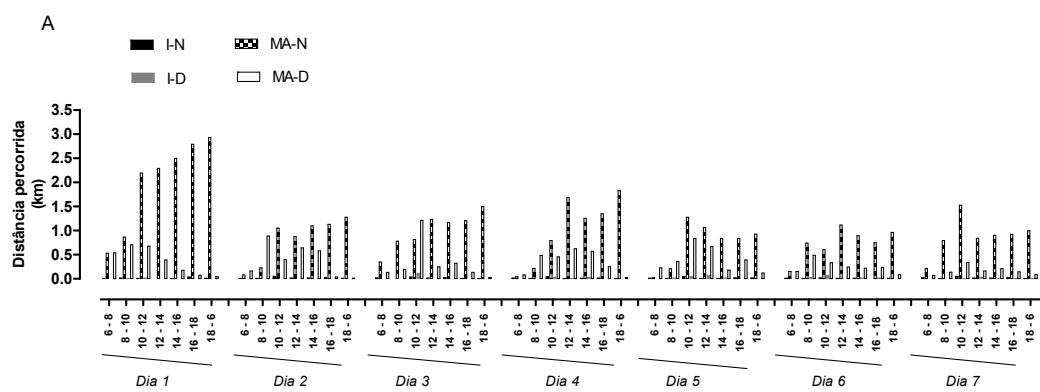


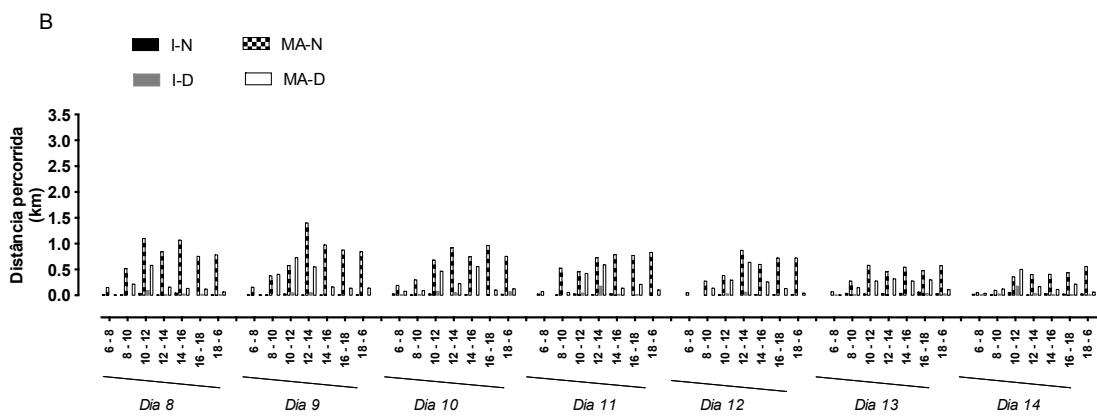
C

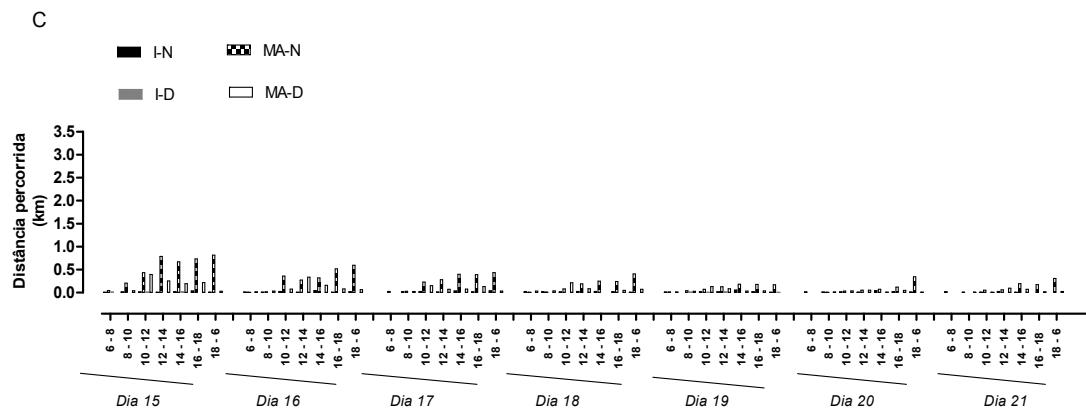




**Figura 8:** Distância percorrida em km (A), tempo em minutos (B), gasto calórico em kcal (C) e velocidade media em km/h (D) durante 21 dias de gestação. Durante o período de gestação, os grupos foram constituídos por inativo nutrido (I-N,  $n = 5$ ), muito ativo nutrido (MA-N,  $n = 5$ ), inativo desnutrido (I-D,  $n = 5$ ) e muito ativo desnutrido (MA-D,  $n = 5$ ). Os valores são apresentados como médias + S.E.M.  $^+p < 0.05$  I-N vs I-D e  $^*p < 0.05$  MA-N vs MA-D, usando two-way ANOVA e pós-teste Bonferroni.

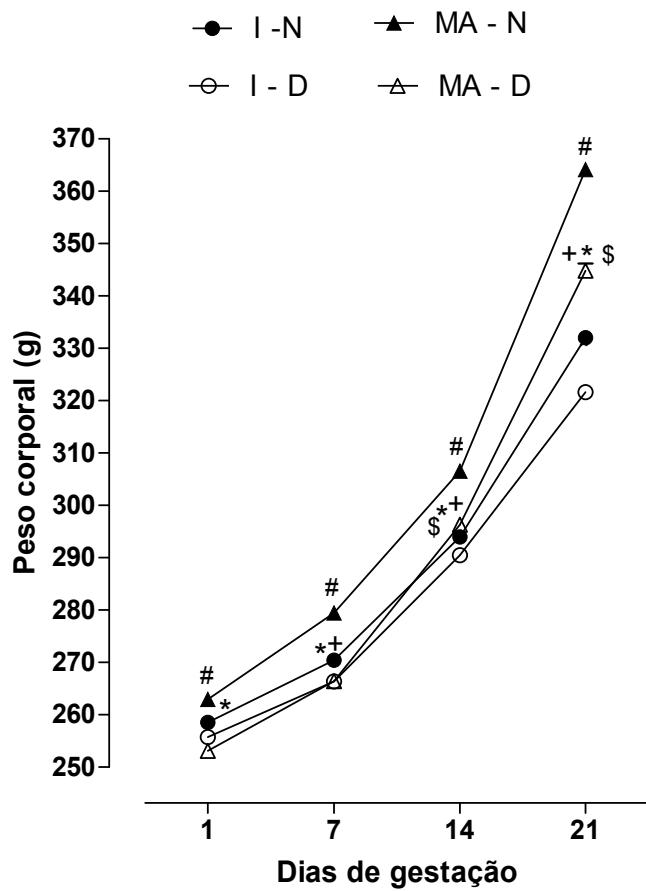


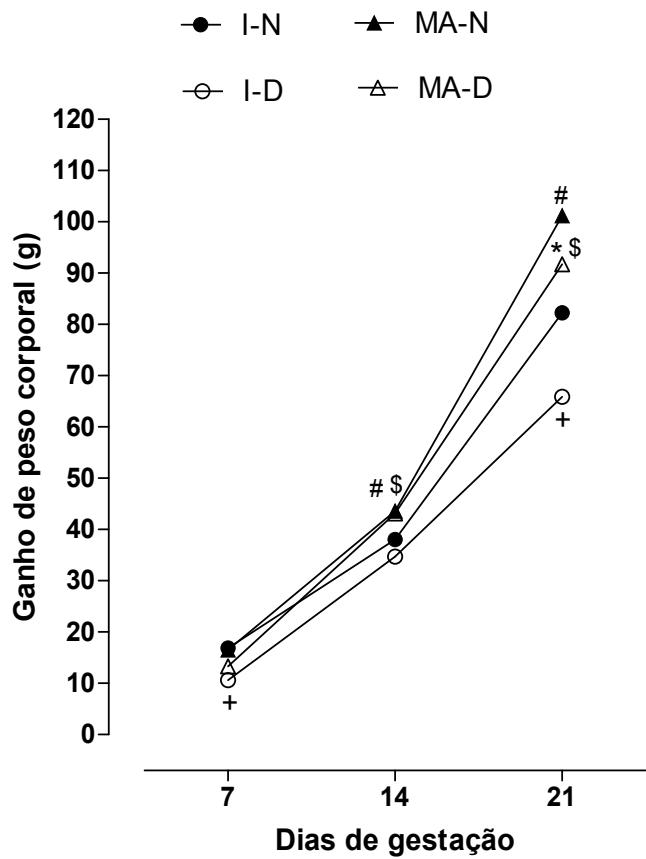


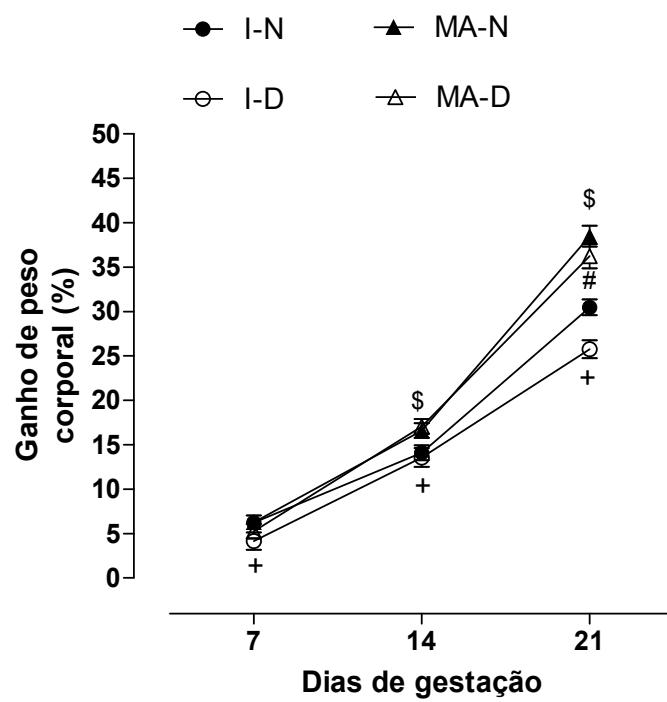


**Figure 9.** Distância percorrida diariamente (km) registrada a cada duas horas na gestação. Primeira semana (A), segunda semana (B) e terceira semana (C).

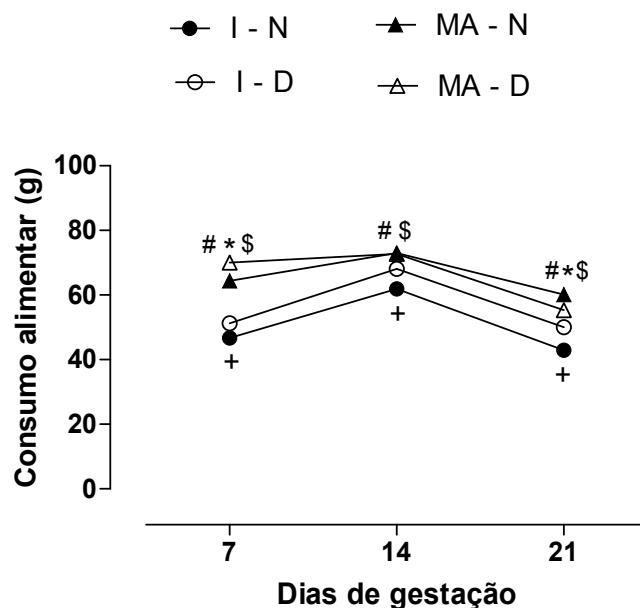
Finalmente, durante a gestação foi avaliado o efeito da AFV e da dieta hipoprotéica sobre o peso corporal absoluto, ganho de peso corporal (gramas e percentual) e consumo alimentar (Figura 10A, B, C e D). Em relação à atividade física, os grupos MA-N e MA-D apresentaram maior peso corporal do que os grupos I-N e I-D, especialmente no final da gestação (Figura 10A). O mesmo perfil foi encontrado no ganho de peso corporal (gramas e percentual) na comparação desses grupos (Figura 10B e C). Na maior parte da gestação, os grupos MA-N e MA-D ingeriram mais ração do que o I-N e I-D (Figura 10D). No que diz respeito à desnutrição, o grupo MA-D exibiu menor peso corporal na última semana de gestação comparado ao MA-N, enquanto os grupos I-N e I-D não diferiram (Figura 10A). Contudo, os grupos I-D e MA-D apresentaram menor ganho de peso corporal (em gramas) em comparação aos seus grupos I-N e MA-N, respectivamente (Figura 10B). Já o ganho de peso em percentagem, apenas o grupo I-D foi menor do que I-N no último dia de gestação (Figura 10C). Embora os grupos I-D e MA-D tenham apresentado menor ganho de peso corporal na maioria dos dias (figura 10A, B e C), houve maior consumo alimentar comparados aos seus grupos I-N e MA-N (Figura 10D). Não houve diferença entre os grupos com relação à glicemia de jejum, todos os grupos demonstraram decaimento nos valores durante a gestação comparados ao último dia de adaptação (Figura 11).

**A**

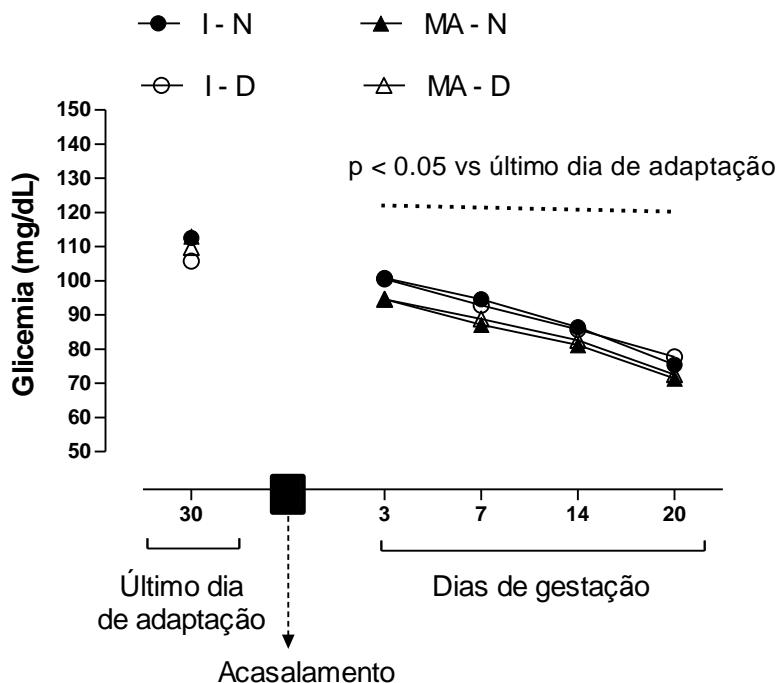
**B**

**C**

D



**Figura 10:** Peso corporal em gramas (A), ganho de peso corporal em gramas (B), ganho de peso corporal em percentagem (C), consumo alimentar em gramas (D) e glicemia basal (E) durante 21 dias de gestação. Durante o período de gestação, os grupos foram constituídos por inativo nutrido (I-N,  $n = 5$ ), muito ativo nutrido (MA-N,  $n = 5$ ), inativo desnutrido (I-D,  $n = 5$ ) e muito ativo desnutrido (MA-D,  $n = 5$ ). Os valores são apresentados como médias + S.E.M.  ${}^+p < 0.05$  I-N vs I-D,  ${}^*p < 0.05$  MA-N vs MA-D,  ${}^{\#}p < 0.05$  I-N vs MA-N e  ${}^{+\dagger}p < 0.05$  I-D vs MA-D, usando two-way ANOVA e pós-teste Bonferroni.



**Figura 11:** Glicemia de jejum em mg/dL, mensurada no último dia de adaptação, 3º, 7º, 14º, and 20º dia de gestação. Durante o período de gestação, os grupos foram constituídos por inativo nutrido (I-N,  $n = 5$ ), muito ativo nutrido (MA-N,  $n = 5$ ), inativo desnutrido (I-D,  $n = 5$ ) e muito ativo desnutrido (MA-D,  $n = 5$ ). Os valores são apresentados como médias + S.E.M.  $p < 0.05$ , usando two-way ANOVA e pós-teste Bonferroni.

Após a gestação, foram registrados alguns dados do parto referente aos filhotes (Tabela 3). O peso das ninhadas MA-N e MA-D foi maior do que das ratas I-N (Tabela 3). Contudo o peso por filhote foi menor no grupo MA-D comparado ao I-N e MA-N (Tabela 3). Quanto ao número de filhotes, número de machos, número de fêmeas e número de mortos não houve diferença entre os grupos (Tabela 3).

**Tabela 3:** Dados do parto

	I-N (n=5)		I-D (n=5)		MA-N (n=5)		MA-D (n=5)	
	Média	EPM	Média	EPM	Média	EPM	Média	EPM
<b>Dados dos filhotes (ao nascimento)</b>								
Peso da ninhada	59,16	0,95	61,21	0,59	84,25 <sup>*</sup>	0,63	68,46 <sup>*+</sup>	0,83
Peso de filhotes	6,02	0,18	6,16	0,24	5,99	0,16	5,16 <sup>*+</sup>	0,18
	Mediana	Min-Máx	Mediana	Min-Máx	Mediana	Min-Máx	Mediana	Min-Máx
Nº de filhotes	10	4 – 14	9	8 – 14	14	12 – 17	12	9 – 18
Nº de machos	3	0 – 5	5	3 – 7	6	4 – 7	6	0 – 8
Nº de fêmeas	7	0 – 10	6	1 – 10	8	7 – 10	7	0 – 10
Nº de mortos	0	0 – 0	2	0 – 2	0	0 – 0	3	0 – 5

I-N, Grupo inativo nutrido; I-D, grupo inativo desnutrido; MA-N, grupo muito ativo nutrido; MA-D, muito ativo desnutrido. Valores apresentados em média, erro padrão da média (EPM), mediana, mínimo (Min) e máximo (Máx). <sup>\*</sup> $p < 0.05$  vs I-N e <sup>+</sup> $p < 0.05$  vs MA-N, usando one-way ANOVA e pós-teste Tukey.

## 7. DISCUSSÃO

---

Nos últimos anos, tem sido reconhecido que um estilo de vida materno ativo melhora o condicionamento físico da mãe com consequências positivas para o desenvolvimento do feto (CLAPP, 2008; FLETEN *et al.*, 2010). Estudos com humanos têm demonstrado que a prática de atividade física durante a gestação está associada com: aumento da aptidão cardiorrespiratória, redução do risco de diabetes mellitus e hipertensão gestacional, controle do ganho de peso, redução da fadiga muscular esquelética e inchaço dos membros inferiores (MELZER *et al.*, 2010; ZAVORSKY e LONGO, 2011). Para o feto, os benefícios incluem diminuição de massa gorda, maior tolerância ao estresse e avançada maturação neurocomportamental (MELZER *et al.*, 2010).

Os estudos com modelos animais ainda são escassos e pouco avanço tem sido referido devido aos diferentes protocolos utilizados, ao tempo de adaptação à gaiola, ao nível de aptidão física da mãe e a classificação dos grupos experimentais (JUNG e LUTHIN, 2010; CARTER *et al.*, 2013). O nosso grupo recentemente padronizou um protocolo de AFV, no qual as ratas foram classificadas em inativas, ativas e muito ativas, de acordo com a distância percorrida, tempo e gasto calórico estimado (SANTANA *et al.*, 2014). O presente estudo utilizou este protocolo experimental e os grupos foram classificados como inativos ou muito ativos, sendo possível avaliar o efeito da AFV em ratas gestantes submetidas à desnutrição protéica. O principal achado do presente estudo foi que a AFV realizada antes da concepção induziu maior ingestão alimentar e o ganho de peso corporal em ratas gestantes desnutridas comparadas às inativas desnutridas. Além disso, foi traçado o perfil de AFV de ratas gestantes com

dieta normoprotéica e hipoprotéica. Estes resultados podem servir como base para estudos futuros na avaliação de filhotes provindos de mães nessas condições ambientais.

De acordo com a classificação do nível de atividade física, as ratas no presente estudo foram apenas classificadas como inativas e muito ativas, não havendo o grupo ativo. Embora as ratas I se encontravam nas mesmas condições ambientais das ratas MA, a presença do cicloergômetro não foi suficiente para estimular a corrida. Estudos experimentais demonstram que há forte contribuição genética na determinação de diferentes comportamentos (HOULE-LEROY *et al.*, 2000; TSAO *et al.*, 2001; LERMAN *et al.*, 2002). Tsao et al, (2001) observaram que camundongos com super-expressão de GLUT4 (transportador de glicose) corriam uma distância quatro vezes maior (3,7 km/dia) do que o seu controle sedentário. Este fato levou pesquisadores a sugerir que o nível de atividade física pode ter sido influenciado por fatores intra-individuais (LIGHTFOOT *et al.*, 2004). Para as ratas do grupo MA, a AFV foi motivada pela presença do cicloergômetro, sem qualquer estimulação externa (JONAS *et al.*, 2010). O mecanismo envolvido parece estar relacionado com alterações neurobiológicas através do sistema dopamínérigo e endocanabinóide (VOLKOW *et al.*, 2004; KEENEY *et al.*, 2008). Estudos sugerem que ratos muito ativos tem um aumento na expressão de dopamina e seus receptores, alterando assim o limite de recompensa para roda de corrida (BELKE e GARLAND, 2007; DAVIS *et al.*, 2008).

Na adaptação, foram também delineados os hábitos de AFV das ratas. As ratas definiram um padrão de ritmicidade ao longo do dia apenas a partir da terceira semana. Esse fato pode ser atribuído à habituação do novo ambiente mediado pelo nível fisiológico de corticosterona no plasma (SASSE *et al.*, 2008). Ao longo dos 30 dias, o grupo MA apresentou um aumento nos parâmetros de atividade física com pequenas oscilações. Nossos dados corroboram com estudos anteriores, os quais demonstraram

semelhante habituação ao ambiente (CARTER *et al.*, 2012; CARTER *et al.*, 2013; SANTANA *et al.*, 2014). No presente estudo, tivemos o cuidado de utilizar as ratas no mesmo período do ciclo estral (*proestrus*). Assim, as oscilações semelhantes de atividade física ao longo dos dias podem ser explicadas por mudanças hormonais do ciclo estral das ratas (*proestrus*, *estrus*, *metestrus* e *diestrus*) (ANANTHARAMAN-BARR e DECOMBAZ, 1989). As ratas tendem a praticar maior quantidade de atividade física no período *proestrus* devido aos altos níveis de estrogênio, com menor atividade no *metestrus* (ANANTHARAMAN-BARR e DECOMBAZ, 1989).

Os diferentes níveis de atividade física afetaram o peso corporal, ganho de peso corporal (gramas e percentual) e ingestão alimentar das ratas. As ratas MA tiveram menor ganho de peso corporal em comparação as ratas I, embora tenham consumido mais ração. Estudos anteriores demonstraram que o aumento da atividade física no cicloergômetro está associado ao maior consumo alimentar (SWALLOW *et al.*, 2001; JUNG *et al.*, 2010). Evidências apontam que a redução da massa corporal induz um aumento nas concentrações de ghrelina, hormônio estimulador da secreção de neuropeptídos orexígenos, aumentando assim o consumo alimentar (FOSTER-SCHUBERT *et al.*, 2005; DELPORTE, 2013). Isto nos permite sugerir que o organismo tenha se adaptado em resposta ao déficit de energia, em busca de sua homeostase energética (TSCHOP *et al.*, 2001). No entanto, o aumento da ingestão alimentar no presente estudo não foi o bastante para manter o ganho de peso corporal. Com base nesses achados, é possível que o acesso ao cicloergômetro tenha resultado em diminuição da gordura corporal (JUNG e LUTHIN, 2010).

O principal resultado desse estudo refere aos efeitos da atividade física durante a gestação em ratas com déficit protéico na dieta. Os grupos MA-N e MA-D não mantiveram a ritmicidade, havendo diminuição gradual na prática de atividade física.

Nossos dados corroboram com estudos anteriores, nos quais as gestantes tiveram uma tendência natural de redução do nível de atividade física ao longo da gestação (CARTER *et al.*, 2012; CARTER *et al.*, 2013; SANTANA *et al.*, 2014). Devido às adaptações fisiológicas na gestação (formação da placenta, ganho de peso, mudanças metabólicas e nos níveis hormonais, menores taxas de glicose sanguínea e de pressão arterial), pode ocorrer maior cansaço e sonolência, assim menor disposição para a prática de atividade física (YEOMANS e GILSTRAP, 2005; CHASAN-TABER *et al.*, 2007). Deste modo, o instinto materno prevaleceu, priorizando o maior ganho de peso corporal, no intuito de acumular reservas energéticas para o desenvolvimento embrionário. Contudo, nossos achados ainda mostraram que a diminuição nos parâmetros de atividade física foi mais acentuada no grupo MA-D do que no MA-N. Um estímulo ambiental como a desnutrição pode alterar o metabolismo de um organismo durante a gestação (SOUZA DDE *et al.*, 2012). Leandro *et al.* (2012b) demonstrou que uma dieta hipoprotéica é capaz de induzir redução na secreção de insulina. Dessa forma, a desnutrição protéica pode diminuir o desempenho materno na prática de atividade física devido a alterações na utilização de combustível energético.

A atividade física e a desnutrição tiveram efeito sobre o peso corporal, ganho de peso corporal (gramas e percentual) e a ingestão alimentar de ratas durante a gestação. Os grupos I-D e MA-D apresentaram menor ganho de peso corporal em alguns dias da gestação, porém maior consumo alimentar do que I-N e MA-N, respectivamente. Em relação à desnutrição, nossos resultados condizem com dados encontrados na literatura (FIDALGO; *et al.*, 2010; FALCAO-TEBAS *et al.*, 2012). Apesar do grupo desnutrido ter apresentado maior ingestão alimentar, a restrição protéica materna está associada com menores estoques de nutrientes no organismo, ocorrendo assim uma diminuição no ganho de massa corporal (MALLINSON *et al.*, 2007). No entanto, no presente estudo, o

grupo MA-D apresentou maior peso corporal comparado aos grupos inativas, sugerindo que a atividade física foi capaz de induzir aumento de massa magra nas ratas (HIRABARA *et al.*, 2006). Dessa forma, a atividade física pode melhorar a aptidão física de ratas gestantes desnutridas para um melhor desenvolvimento fetal e manutenção da lactação posteriormente (CLAPP, 2003).

Na descrição dos dados do parto foi observado que os grupos MA-N e MA-D tiveram ninhadas mais pesadas comparadas ao I-N. Pesquisas recentes tem demonstrado que a atividade física é capaz de atenuar os efeitos provocados pela desnutrição ou hipóxia (AKHAVAN *et al.*, 2012; FIDALGO *et al.*, 2012; LEANDRO *et al.*, 2012a). Akhavan *et al.* (2012) forneceram evidências de que a atividade física voluntária materna apresentou um efeito protetor contra a hipóxia pós-natal de filhotes de ratos. O mecanismo pode estar relacionado com a melhora na capacidade funcional da placenta (CLAPP *et al.*, 2000). A continuação da atividade física durante a gestação, mesmo em menor intensidade, pode ter impacto sobre a placenta, através do aumento de suas vilosidades terminais (THOMAS, CLAPP e SHERNCE, 2008). Assim, o maior volume placentário aumentaria o fornecimento de nutrientes e oxigênio ao feto, potencializando seu desenvolvimento (CLAPP *et al.*, 2000).

Um dado interessante é que mesmo havendo uma diminuição do nível de atividade física na gestação das ratas MA-N e MA-D para ativas e posteriormente para inativas, é possível perceber o efeito da atividade física sobre a desnutrição nos parâmetros demonstrados anteriormente. Nossos dados condizem com estudos prévios, nos quais as ratas praticaram atividade física antes e durante a gestação (com menor intensidade) e observaram benefícios na mãe e na prole (FALCAO-TEBAS *et al.*, 2012; CARTER *et al.*, 2013; SANTANA *et al.*, 2014). Carter *et al.* (2013) demonstraram que a atividade física materna iniciada 1 semana antes da gestação com diminuição de

intensidade durante a gestação melhorou a sensibilidade de insulina da prole. Acredita-se que o fenótipo da mãe seja um reflexo da exposição de fatores ambientais cumulativos ao longo da vida, sugerindo “pistas” ao feto sobre as condições de vida do meio (WELLS, 2012). Dessa forma, os “sinais” transmitidos ao feto não seriam diretamente do ambiente externo, mas do fenótipo materno cumulativo (WELLS, 2012). Assim, a atividade física materna prévia a gestação pode possibilitar melhor aptidão física materna e consequentemente maior proteção no desenvolvimento da sua prole (WELLS, 2010; GARBER *et al.*, 2011).

O estilo de vida materno adequado (dieta e atividade física) tem sido relacionado com o menor risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis na prole (FIDALGO *et al.*, 2012; DE BRITO ALVES *et al.*, 2013). No período crítico de desenvolvimento, o indivíduo apresenta maior plasticidade, ocorrendo às devidas alterações de acordo com as condições ambientais (MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). Contudo, apesar da influência do período crítico sobre o desenvolvimento do feto, sua história de vida pode alterar a trajetória de crescimento (WELLS, 2012).

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS**

---

No presente estudo, demonstramos que as ratas apresentam influências intraespecíficas na escolha da prática de atividade física voluntária. As ratas que optam por utilizar o cicloergômetro apresentam o mesmo padrão de comportamento, havendo uma diminuição durante a gestação. A prática regular de atividade física voluntária materna é capaz de otimizar a aptidão física da mãe nutrida ou desnutrida, podendo haver maior investimento nos seus filhotes. Os nossos achados corroboram com estudos que testam a hipótese da plasticidade fenotípica e abrem um cenário para melhor entendimento dos efeitos da atividade física e desnutrição materna sobre os filhotes.

Nossas perspectivas serão realizar experimentos com o mesmo desenho experimental, para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos. Em adição, extrapolar para análise dos efeitos das variações ambientais sobre o desenvolvimento dos filhotes.

Analizar o efeito da atividade física voluntária em ratas gestantes que receberam dieta hipoprotéica durante a gestação e/ou lactação:

- Composição corporal (massa gorda e massa muscular);
- Atividade das enzimas citrato sintase, beta-HAD e PFK;
- Alterações epigenéticas.

Avaliar os efeitos da atividade física voluntária e da dieta hipoprotéica materna sobre os filhotes:

- Ontogênese reflexa;

- Atividade locomotora;
- Nível de atividade física.

## REFERÊNCIAS

---

AKHAVAN, M. M. et al. Prenatal exposure to maternal voluntary exercise during pregnancy provides protection against mild chronic postnatal hypoxia in rat offspring. **Pak J Pharm Sci**, v. 25, n. 1, p. 233-238, Jan 2012.

AMORIM, M. F. et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? **Exp Physiol**, v. 94, n. 8, p. 906-913, Aug 2009.

ANANTHARAMAN-BARR, H. G.; DECOMBAZ, J. The effect of wheel running and the estrous cycle on energy expenditure in female rats. **Physiol Behav**, v. 46, n. 2, p. 259-263, Aug 1989.

BELKE, T. W.; GARLAND, T., JR. A brief opportunity to run does not function as a reinforcer for mice selected for high daily wheel-running rates. **J Exp Anal Behav**, v. 88, n. 2, p. 199-213, Sep 2007.

CARTER, L. G. et al. Perinatal exercise improves glucose homeostasis in adult offspring. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 303, n. 8, p. E1061-1068, Oct 15 2012.

CARTER, L. G. et al. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. **Med Sci Sports Exerc**, v. 45, n. 5, p. 832-840, May 2013.

CHASAN-TABER, L. et al. Correlates of physical activity in pregnancy among Latina women. **Matern Child Health J**, v. 11, n. 4, p. 353-363, Jul 2007.

CLAPP, J. F. Effects of Diet and Exercise on Insulin Resistance during Pregnancy. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 4, n. 2, p. 84-90, Summer 2006.

CLAPP, J. F., 3RD. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 110 Suppl 1, p. S80-85, Sep 22 2003.

\_\_\_\_\_. Long-term outcome after exercising throughout pregnancy: fitness and cardiovascular risk. **Am J Obstet Gynecol**, v. 199, n. 5, p. 489 e481-486, Nov 2008.

CLAPP, J. F., 3RD et al. Beginning regular exercise in early pregnancy: effect on fetoplacental growth. **Am J Obstet Gynecol**, v. 183, n. 6, p. 1484-1488, Dec 2000.

CLAPP, J. F., 3RD et al. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. **Am J Obstet Gynecol**, v. 186, n. 1, p. 142-147, Jan 2002.

DAVIS, C. et al. Reward sensitivity and the D2 dopamine receptor gene: A case-control study of binge eating disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 32, n. 3, p. 620-628, Apr 1 2008.

DE BRITO ALVES, J. L. et al. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **Br J Nutr**, p. 1-10, Sep 23 2013.

DELPORTE, C. Structure and Physiological Actions of Ghrelin. **Scientifica (Cairo)**, v. 2013, p. 518909, 2013.

DWARKANATH, P. et al. The relationship between maternal physical activity during pregnancy and birth weight. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 16, n. 4, p. 704-710, 2007.

FALCAO-TEBAS, F. et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. **Br J Nutr**, v. 107, n. 3, p. 372-377, Feb 2012.

FALCÃO-TEBAS, F. et al. EFFECTS OF PHYSICAL TRAINING DURING PREGNANCY ON BODY WEIGHT GAIN, BLOOD GLUCOSE AND CHOLESTEROL IN ADULT RATS SUBMIT TED TO PERINATAL UNDERNUTRITION. **Rev Bras Med Esporte**, v. 18, p. 58-62, 2012.

FIDALGO, M. et al. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. **Br J Nutr**, p. 1-8, May 1 2012.

FIDALGO, M. et al. Effects of Physical Training and Malnutrition During Pregnancy on the Skull Axis of Newborn Rats. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, p. 441-444, 2010.

FLETEN, C. et al. Exercise during pregnancy, maternal prepregnancy body mass index, and birth weight. **Obstet Gynecol**, v. 115, n. 2 Pt 1, p. 331-337, Feb 2010.

FOSTER-SCHUBERT, K. E. et al. Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 2, p. 820-825, Feb 2005.

GARBER, C. E. et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, Jul 2011.

GARLAND, T., JR. et al. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. **J Exp Biol**, v. 214, n. Pt 2, p. 206-229, Jan 15 2011.

HALES, C. N. et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. **BMJ**, v. 303, n. 6809, p. 1019-1022, Oct 26 1991.

HIRABARA, S. M. et al. Role of fatty acids in the transition from anaerobic to aerobic metabolism in skeletal muscle during exercise. **Cell Biochem Funct**, v. 24, n. 6, p. 475-481, Nov-Dec 2006.

HOULE-LEROY, P. et al. Effects of voluntary activity and genetic selection on muscle metabolic capacities in house mice *Mus domesticus*. **J Appl Physiol (1985)**, v. 89, n. 4, p. 1608-1616, Oct 2000.

JONAS, I. et al. Behavioral traits are affected by selective breeding for increased wheel-running behavior in mice. **Behav Genet**, v. 40, n. 4, p. 542-550, Jul 2010.

JUNG, A. P. et al. Physical activity and food consumption in high- and low-active inbred mouse strains. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 10, p. 1826-1833, Oct 2010.

JUNG, A. P.; LUTHIN, D. R. Wheel access does not attenuate weight gain in mice fed high-fat or high-CHO diets. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 2, p. 355-360, Feb 2010.

KEENEY, B. K. et al. Differential response to a selective cannabinoid receptor antagonist (SR141716: rimonabant) in female mice from lines selectively bred for high voluntary wheel-running behaviour. **Behav Pharmacol**, v. 19, n. 8, p. 812-820, Dec 2008.

LANGLEY-EVANS, S. C. et al. Protein restriction in the pregnant mouse modifies fetal growth and pulmonary development: role of fetal exposure to  $\{\beta\}$ -hydroxybutyrate. **Exp Physiol**, v. 96, n. 2, p. 203-215, Feb 2011.

LEANDRO, C. G. et al. Pode a atividade física materna modular a programação fetal induzida pela nutrição? **Revista de Nutrição**, v. 22, p. 559-569, 2009.

LEANDRO, C. G. et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **Eur J Nutr**, v. 51, n. 7, p. 807-815, Oct 2012a.

LEANDRO, C. G. et al. Maternal moderate physical training during pregnancy attenuates the effects of a low-protein diet on the impaired secretion of insulin in rats: potential role for

compensation of insulin resistance and preventing gestational diabetes mellitus. **J Biomed Biotechnol**, v. 2012, p. 805418, 2012b.

LERMAN, I. et al. Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. **J Appl Physiol (1985)**, v. 92, n. 6, p. 2245-2255, Jun 2002.

LIGHTFOOT, J. T. et al. Genetic influence on daily wheel running activity level. **Physiol Genomics**, v. 19, n. 3, p. 270-276, Nov 17 2004.

LOPES DE SOUZA, S. et al. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J Neurosci**, v. 27, n. 6, p. 1400-1408, Mar 2008.

MALLINSON, J. E. et al. Fetal exposure to a maternal low-protein diet during mid-gestation results in muscle-specific effects on fibre type composition in young rats. **Br J Nutr**, v. 98, n. 2, p. 292-299, Aug 2007.

MELZER, K. et al. Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy outcomes. **Sports Med**, v. 40, n. 6, p. 493-507, Jun 1 2010.

MORGANE, P. J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 17, n. 1, p. 91-128, Spring 1993.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, n. 4, p. 471-483, Jun 2002.

MOUSSEAU, T. A.; FOX, C. W. The adaptive significance of maternal effects. **Trends Ecol Evol**, v. 13, n. 10, p. 403-407, Oct 1 1998.

OROZCO-SOLIS, R. et al. Early protein-restriction-induced hyperphagia: a behavioural analysis. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67 p. E427-E427, 2008.

OZANNE, S. E. et al. Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression. **Diabetologia**, v. 48, n. 3, p. 547-552, Mar 2005.

PHILLIPS, D. I. et al. Fetal and infant growth and glucose tolerance in the Hertfordshire Cohort Study: a study of men and women born between 1931 and 1939. **Diabetes**, v. 54 Suppl 2, p. S145-150, Dec 2005.

RAO, S. et al. Maternal activity in relation to birth size in rural India. The Pune Maternal Nutrition Study. **Eur J Clin Nutr**, v. 57, n. 4, p. 531-542, Apr 2003.

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, n. 7, p. 349-353, Aug 12 1976.

REEVES, P. G. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. **J Nutr**, v. 127, n. 5 Suppl, p. 838S-841S, May 1997.

SANTANA, G. et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiology and Behavior**, 2014.

SASSE, S. K. et al. Chronic voluntary wheel running facilitates corticosterone response habituation to repeated audiogenic stress exposure in male rats. **Stress**, v. 11, n. 6, p. 425-437, Nov 2008.

SEAR, R.; MACE, R.; MCGREGOR, A. I. The effects of kin on female fertility in rural Gambia. **Evol Hum Behav**, v. 24, n. 25-42, 2003.

SOUZA DDE, F. et al. A low-protein diet during pregnancy alters glucose metabolism and insulin secretion. **Cell Biochem Funct**, v. 30, n. 2, p. 114-121, Mar 2012.

SUBRAMANIAN, S. V. et al. Association of maternal height with child mortality, anthropometric failure, and anemia in India. **JAMA**, v. 301, n. 16, p. 1691-1701, Apr 22 2009.

SWALLOW, J. G. et al. Food consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity. **J Comp Physiol B**, v. 171, n. 8, p. 651-659, Nov 2001.

THOMAS, D. M.; CLAPP, J. F.; SHERNCE, S. A foetal energy balance equation based on maternal exercise and diet. **J R Soc Interface**, v. 5, n. 21, p. 449-455, Apr 6 2008.

TSAO, T. S. et al. Metabolic adaptations in skeletal muscle overexpressing GLUT4: effects on muscle and physical activity. **FASEB J**, v. 15, n. 6, p. 958-969, Apr 2001.

TSCHOP, M. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 707-709, Apr 2001.

VOLKOW, N. D. et al. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. **Mol Psychiatry**, v. 9, n. 6, p. 557-569, Jun 2004.

WELLS, J. C. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. **Am J Hum Biol**, v. 22, n. 1, p. 1-17, Jan-Feb 2010.

\_\_\_\_\_. A critical appraisal of the predictive adaptive response hypothesis. **Int J Epidemiol**, v. 41, n. 1, p. 229-235, Feb 2012.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and evolution., 2003.

YEOMANS, E. R.; GILSTRAP, L. C., 3RD. Physiologic changes in pregnancy and their impact on critical care. **Crit Care Med**, v. 33, n. 10 Suppl, p. S256-258, Oct 2005.

ZAVORSKY, G. S.; LONGO, L. D. Exercise guidelines in pregnancy: new perspectives. **Sports Med**, v. 41, n. 5, p. 345-360, May 1 2011.

## **ANEXO 1- Artigo de Revisão**

**Título:** Nutrição e atividade física durante o desenvolvimento: uma abordagem à luz da plasticidade fenotípica

**Title:** Nutrition and physical activity during the development: an approach in the light of phenotypic plasticity

**Título-resumido:** Nutrição e plasticidade fenotípica.

**Short-title:** Nutrition and phenotypic plasticity

**Autores:** Carol Góis Leandro<sup>1,3</sup>, Renata Beserra<sup>3</sup>, Ana Elisa Toscano<sup>2</sup>, João Henrique Costa-Silva<sup>1</sup>, Raul Manhães de Castro<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco

<sup>2</sup>Núcleo de Enfermagem - Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco

<sup>3</sup>Departamento de Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco

**Contribuição dos autores:**

<sup>1</sup> Consulta as bases de dados e escrita do artigo;

<sup>1,2,3,4</sup> Escrita e revisão final do artigo;

**Endereço para correspondência:**

Carol Góis Leandro

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, CAV/UFPE. Rua Alto do Reservatório, s/n.

Vitória de Santo Antão – PE.

CEP: 55608-680

Telefone: 81 2126 8463

Fax: 81 2126 8470

E-mail: [carolleandro22@gmail.com](mailto:carolleandro22@gmail.com)

## Resumo

**Objetivos:** Discutir a relação entre a nutrição, atividade física e qualidade de vida nas diferentes fases de crescimento e desenvolvimento no contexto da plasticidade fenotípica.

**Métodos:** Foram utilizados artigos publicados entre os anos de 2000 até 2013 nas bases de dados Medline/Pubmed, Lilacs e Bireme que tinham como termos de indexação: *perinatal undernutrition, protein undernutrition, developmental plasticity, physical activity, metabolic diseases e nutritional transition*.

**Resultados:** A má-nutrição ocorrida em períodos críticos do desenvolvimento (gestação, lactação e primeira infância) promove uma reestruturação morfológica e fisiológica no organismo. A curto-prazo, estas modificações são benéficas e garantem a sobrevivência, mas a longo-prazo, estão associadas ao aparecimento precoce de doenças metabólicas. Por outro lado, a prática regular de atividade física desde o período de gestação e nos diferentes ciclos de vida aumenta a aptidão física e a aderência a um estilo de vida ativo sobrepondo os efeitos da má-nutrição. **Conclusão:** Os efeitos da má-nutrição podem ser revertidos pela prática regular de atividade física nas fases críticas de desenvolvimento e nos diferentes ciclos de vida. Estudos prospectivos e de intervenção têm demonstrado que o comportamento ativo e os hábitos alimentares saudáveis assumidos na infância repercutem positivamente durante a adolescência.

**Palavras-chave:** Subnutrição, obesidade, gestação, infância, plasticidade durante o desenvolvimento, exercício físico.

## Abstract

**Objective:** The main goal of the present study was to discuss the relationship among nutrition, physical activity and quality of life in the context of phenotype plasticity. **Methods:** Papers published between the years of 2000 to 2013 in the Medline/Pubmed, Lilacs and Bireme databases. The index terms were: *perinatal undernutrition, protein undernutrition, developmental plasticity, physical activity, metabolic diseases e nutritional transition*. **Results:** Malnutrition during critical period of development (gestation, lactation and first infancy) induces morphological and physiological changes of the organism. At short-term, these changes are benefic and secure the survivor, but at long-term, it can be related to earlier appearance of metabolic diseases. On the other hand, regular physical activity at different cycle of promotes enhanced physical fitness and surpasses the effects of malnutrition. **Conclusion:** The effects of earlier malnutrition are attenuated by regular physical activity during the different cycles of life. Prospective studies have demonstrated that the active behavior and feeding habits assumed during infancy and adolescence positively influences lifestyle during adulthood.

**Key-words:** Subnutrition, obesity, gestation, infancy, developmental plasticity, physical exercise

## Introdução

Nas últimas décadas, tem sido registrado um aumento exponencial da prevalência de obesidade, diabetes tipo II, hipertensão, dislipidemias e outras doenças de foro metabólico<sup>1</sup>. Embora os fatores genéticos estejam fortemente associadas e determinem o grau de susceptibilidade individual, os fatores ambientais têm sido referenciados como os principais responsáveis pelo aparecimento destas doenças. Neste sentido, o rápido desenvolvimento econômico-social, redistribuição demográfica, avanços tecnológicos e urbanização levaram a dois extremos da má-nutrição, a subnutrição e a obesidade<sup>2</sup>. Da mesma forma, a nova panorâmica econômico-social também tem levado a população a assumir um estilo de vida inativo e hábito sedentário<sup>3</sup>. Este cenário é particularmente importante na população pediátrica<sup>4</sup>, uma vez que o estilo de vida assumido na infância e na adolescência parece ter um papel importante na vida adulta<sup>3</sup>.

A variação do estado nutricional durante períodos críticos do desenvolvimento (gestação, lactação e primeira infância) causa adaptações fisiológicas e morfológicas que impõem processos adaptativos ao organismo de forma a garantir a sua sobrevivência<sup>5</sup>. A longo-prazo, a exposição às mudanças no aporte de nutrientes pode induzir o aparecimento precoce de doenças metabólicas<sup>6</sup>. A base teórica para entender como a remodelação orgânica resultante da má-nutrição prévia pode impactar no aumento da adiposidade, risco de obesidade e de doenças em resposta ao ambiente atual tem sido referenciada como “plasticidade fenotípica”<sup>5</sup>. Os estudos com humanos e os modelos experimentais com animais utilizando manipulações dietéticas durante o período perinatal apoiam a hipótese de ocorrência de uma plasticidade interferindo na direção do desenvolvimento<sup>2, 7, 8</sup>.

Os efeitos da má-nutrição podem ser revertidos e estratégias de intervenção que incluem a prática de atividade física e dieta balanceada nas fases críticas de desenvolvimento e nos diferentes ciclos de vida são de interesse. A atividade física durante a gestação está associada com melhor aptidão cardiorrespiratória, ganho de peso

limitado, menor incidência de hipertensão e diabetes *mellitus*, melhor provimento de nutrientes para o feto e melhor interação feto-placentária <sup>9-12</sup>. Da mesma forma, vários estudos tem verificado que a promoção de um estilo de vida ativo na infância e adolescência, como a prática regular de atividade física ou treinamento físico, podem atenuar ou mesmo reverter os efeitos da subnutrição e obesidade <sup>3, 13-18</sup>.

Uma das formas de promover a qualidade de vida para crianças e jovens seria a promoção da prática de esportes e de uma educação alimentar nas escolas <sup>19</sup>. Esta ideia é suportada por estudos de intervenção onde aulas de educação física e a educação alimentar estão associados a um crescimento saudável, menor acúmulo de tecido adiposo e maior percentual de massa magra <sup>20</sup>, aumento da capacidade cognitiva, aprendizagem, memória, aptidão física e desenvolvimento neuromotor de crianças <sup>21, 22</sup>. Estudos prospectivos tem demonstrado que o comportamento ativo e hábitos alimentares saudáveis assumido na infância repercutem positivamente durante a adolescência diminuindo o risco de desenvolver doenças na vida adulta <sup>14, 15, 21, 23</sup>.

O presente estudo tem como objetivo, discutir a relação entre a nutrição e atividade física nas diferentes fases de crescimento e desenvolvimento no contexto da plasticidade fenotípica.

## Métodos

Para realização desta revisão, utilizamos como critério de inclusão a seleção de artigos publicados nas bases de dados Medline/Pubmed, Lilacs e Bireme que tinham como termos de indexação: *perinatal undernutrition*, *protein undernutrition*, *developmental plasticity*, *physical activity*, *metabolic diseases* e *nutritional transition*. Dentre os artigos selecionados estão inclusos estudos clássicos sobre “plasticidade durante o desenvolvimento” a partir de 1977 e estudos atuais sobre plasticidade fenotípica. Para a discussão sobre nutrição, atividade física e

plasticidade fenotípica, foram utilizados artigos publicados entre os anos de 2000 até 2013. Este estudo foi realizado nos meses de outubro e dezembro de 2013.

### **A transição nutricional e a plasticidade fenotípica**

O século XX foi marcado por um rápido desenvolvimento econômico-social, redistribuição demográfica, avanços tecnológicos, urbanização de muitos países e pela globalização capitalista associada a mais riqueza material e progressos sociais<sup>2</sup>. Embora esta nova panorâmica tenha proporcionado melhores condições de vida para algumas populações, a desigualdade social-política-econômica e educacional foi exacerbada em outras populações, dentro de países e entre regiões de um mesmo país<sup>2</sup>. Atualmente, esta desigualdade incrementada pelo capitalismo, tem comandado de forma proativa dois extremos da má-nutrição, a subnutrição e a obesidade<sup>24</sup>.

A subnutrição crônica é reconhecida como um dos principais problemas de saúde pública e ainda está presente em países da África, Ásia, América Latina, Caribe e Ilhas do Pacífico e na população indígena<sup>25, 26</sup>. Paradoxalmente, os estudos prospectivos têm apontado para o início de uma epidemia da obesidade, principalmente em populações de países em desenvolvimento e com nível socioeconômico mais baixo<sup>27</sup>. Há, portanto, um processo de transição nutricional, ou seja, estamos passando de uma sociedade marcada por períodos de fome e restrição alimentar, para uma sociedade industrializada e tecnológica caracterizada pelo consumo aumentado de alimentos hipercalóricos e palatáveis e pela inatividade física<sup>27</sup>. É interessante observar que algumas populações parecem apresentar, ao mesmo tempo, características de subnutrição e obesidade, é o chamado “*dual burden*”<sup>2</sup>.

A variação das condições ambientais, particularmente em termos de nutrição, impõe processos adaptativos ao organismo de forma a garantir a sua sobrevivência, o ciclo reprodutivo e a longevidade<sup>5</sup>. A falta ou excesso de nutrientes em períodos críticos do desenvolvimento (alta plasticidade, proliferação e diferenciação celular e crescimento acelerado de órgãos e sistemas)

causa adaptações fisiológicas e morfológicas que demandam uma reestruturação orgânica e metabólica<sup>28</sup>. A curto-prazo, estas adaptações são benéficas, mas podem se tornar um problema quando há a transição do ambiente nutricional escasso para um ambiente abundante<sup>28, 29</sup>. Por exemplo, a exposição às mudanças drásticas no aporte de nutrientes pode ter consequências de ordem fisiológica e produzir o aparecimento precoce de doenças metabólicas, diabetes tipo 2, hipertensão e dislipidemia na vida adulta<sup>6, 8</sup>.

Em humanos, a subnutrição durante a gestação e lactação causa restrição do crescimento e baixo peso ao nascer<sup>6</sup>. Nos primeiros anos de vida e após a recuperação nutricional há um aumento na taxa de crescimento que pode extrapolar o ganho de peso normal (*catch-up*) e ocorrer aumento de deposição de gordura<sup>8</sup>. Este aumento da adiposidade pode levar a resistência à insulina e certamente, o risco de desenvolver a síndrome metabólica e um maior risco para doenças coronarianas precocemente na adolescência<sup>6</sup>. Em fetos com retardamento de crescimento intrauterino, há uma redução no acúmulo de lipídeos no tecido adiposo subcutâneo<sup>30</sup>. Embora o percentual de gordura corporal esteja reduzido, o tecido adiposo visceral está aumentado, mesmo sem apresentar obesidade<sup>30</sup>. Mais interessante, é que este tecido adiposo parece hiporesponsivo à ação das catecolaminas e precocemente resistente à insulina<sup>30</sup>.

Os estudos com animais utilizando manipulações dietéticas durante o período perinatal esteiam a hipótese de ocorrência de uma plasticidade interferindo na direção do desenvolvimento<sup>31</sup>. De forma geral, o genótipo originaria uma variedade de estados fisiológicos distintos em resposta às diferentes condições ambientais durante o desenvolvimento. Estudos prévios têm demonstrado que a desnutrição materna proteica perinatal está associada ao aparecimento precoce de intolerância à glicose, hiperinsulinemia, hipertensão, diabetes tipo II e obesidade nos filhotes ao longo da trajetória de vida<sup>31, 32</sup>. A desnutrição proteica perinatal também causa atraso no desenvolvimento do sistema nervoso, retardamento no crescimento somático, altera o comportamento alimentar, altera o fenótipo de fibras musculares esqueléticas e cardíacas e reduz a atividade locomotora dos filhotes<sup>16, 33, 34</sup>. A redução no conteúdo de

proteínas na dieta (6-9 %) durante a gestação<sup>35</sup>, lactação<sup>36</sup> ou após o desmame<sup>37</sup> leva também ao aumento nos níveis basais de pressão arterial na prole. Ratos adultos cujas mães foram submetidas à restrição alimentar (70% da dieta ofertada ao controle) apresentaram maior gordura suprarrenal relativa ao peso corporal, maiores concentrações de leptina, insulina e glicose séricas, considerados parte dos indicadores do fenótipo da obesidade<sup>38</sup>.

O termo “plasticidade fenotípica” é utilizado para descrever a habilidade de um organismo em reagir aos desafios impostos pelo ambiente alterando a sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade<sup>5</sup>. A plasticidade tem características ativas e adaptativas e, por ser uma variação intra-individual, está suscetível à influência do ambiente (variação do fenótipo) e dos genes (genoma individual)<sup>5</sup>. De fato, o desequilíbrio metabólico que responde a um período de subnutrição e posterior sobre peso e obesidade irá repercutir no descontrole da expressão de genes associados ao apetite e ao metabolismo celular<sup>39</sup>. Da mesma forma, a plasticidade da prole no início da vida em resposta a algum distúrbio nutricional pode estabelecer um fenótipo suscetível a um ambiente obesogênico caracterizado por disponibilidade de alimentos hipercalóricos, consumo exacerbado de gordura e inatividade física<sup>40</sup>. A interação entre gene e ambiente é chamada de “epigenética” e pode explicar como as variações ambientais influenciam a expressão dos genes<sup>39</sup>. A herança epigenética altera a capacidade de um gene a ser manifestado ou silenciado em um descendente sem promover modificações na sequência do DNA<sup>39</sup>.

Assim, os estímulos ambientais poderiam conduzir o organismo a uma adaptação fisiológica, além do que seria possível através do genótipo herdado<sup>41</sup>. É importante ressaltar que estes efeitos não assumem um caráter determinista, e estratégias de intervenção como a prática de atividade física e uma dieta equilibrada podem atuar positivamente. Muitos estudos tem verificado a influência do estilo de vida

no âmbito da atividade física durante períodos de alta plasticidade mesmo diante de restrição dietética<sup>9-12</sup>. Da mesma forma, tem sido verificado que a promoção de um estilo de vida ativo na infância e adolescência, como prática regular de atividade física ou treinamento físico, podem atenuar ou mesmo reverter os efeitos desses dois extremos da má-nutrição, subnutrição e obesidade<sup>3, 13-18</sup>.

### **Atividade Física durante a gestação**

Durante a gestação, a prática de atividade física está associada a uma melhor aptidão cardiorrespiratória, diminuição do desconforto músculo-esquelético, menor incidência de câimbras musculares e edema de membros inferiores, estabilidade no humor e redução da incidência de diabetes *mellitus* gestacional<sup>42</sup>. Para o feto, é observado uma melhor tolerância ao estresse, maior oxigenação, aumento da densidade de vilosidades na placenta, melhor aporte de nutrientes e avançada maturação neurocomportamental<sup>12, 42</sup>. Contudo, a realização de atividade física durante a gestação deve seguir as recomendações quanto à duração, intensidade, tipo, frequência do esforço e nível de aptidão física da mãe. De acordo com o *American College of Obstetricians and Gynecologists*<sup>43</sup>, mulheres gestantes podem se exercitar 30 minutos ou mais (intensidade moderada) todos os dias da semana desde que não apresentem complicações médicas ou obstétricas. Há também recomendações baseadas no cálculo de dispêndio energético (expresso em taxa de equivalente metabólico, MET) por atividade realizada<sup>44</sup>. A partir do MET, é recomendado para as gestantes uma caminhada a 3,2 km/hora, por 11,2 horas por semana (2,5 METs, intensidade leve,  $\leq 40\%$  do  $VO_{2\max}$ ) de forma a manter um dispêndio energético entre 16 - 28 METs/hora/semana<sup>44</sup>.

As repercussões da atividade física regular podem ser entendidas no contexto da plasticidade fenotípica<sup>11</sup>. O balanço energético durante a gestação é um fator importante que afeta a relação entre nutrição materna e o peso ao nascer<sup>45</sup>. Mulheres

subnutridas de comunidades rurais de países em desenvolvimento têm cargas altas de atividade física (trabalho agrícola e atividades domésticas) e seus filhos apresentam baixo peso ao nascer<sup>46</sup>. Extrema carga de trabalho também tem sido associada ao aumento da taxa de aborto e bebês prematuros<sup>46</sup>. Por outro lado, a atividade física de baixa intensidade e realizada sistematicamente está associada ao aumento do peso ao nascer mesmo em mulheres que passaram por privação dietética<sup>47</sup>.

Os modelos animais tem sido utilizados para avaliar os efeitos moduladores da atividade física e/ou desnutrição perinatal nos diferentes ciclos de vida<sup>9</sup>. Ratos cujas mães foram desnutridas (caseína 8%) durante a gestação e lactação e/ou treinadas (50, 30 e 20min/dia na 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> semana respectivamente; 5 dias/semana, 4 semanas antes e 3 semanas durante a gestação, com intensidade de ~40% do VO<sub>2max</sub>), foram avaliados quanto à parâmetros murinométricos e sensório-motores<sup>9</sup>. Foi observado que a desnutrição perinatal atrasa o crescimento somático e a maturação dos reflexos em animais<sup>9</sup>. Todavia, filhotes de mães submetidas à desnutrição associada ao treinamento físico, tiveram o peso corporal, o comprimento naso-anal e a maturação de reflexos normalizados em relação aos seus controles apenas desnutridos<sup>9</sup>. Na vida adulta, os filhotes provindos de mães desnutridas e treinadas apresentaram uma menor expressão de leptina no músculo esquelético e concentrações plasmáticas normais de leptina quando comparados aos seus pares apenas desnutridos<sup>10</sup>.

Os mecanismos subjacentes parecem estar relacionados às alterações na comunicação materno-fetal via placenta<sup>47, 48</sup>. Gestantes exercitadas (20 min/dia, 3-5 dias/semana, com intensidade a 55-60% VO<sub>2max</sub>) apresentaram uma maior eficiência em interagir com o feto devido ao maior volume funcional placentário<sup>49</sup>. Estima-se que o volume placentário de sangue seja maior na 20<sup>a</sup> e 40<sup>a</sup> semana de gestação em mulheres exercitadas (60% do VO<sub>2max</sub>) comparadas as não exercitadas<sup>49</sup>. Outro mecanismo

proposto é que o treinamento físico de intensidade leve/moderada aumenta o consumo de oxigênio de repouso<sup>50</sup>. Em modelos animais, ratas gestantes treinadas em esteira (5 dias/semana, progressiva diminuição da duração 50 – 20 minutos/dia, a 40% do VO<sub>2max</sub>) apresentaram um menor ganho de peso corporal e um aumento no consumo de oxigênio de repouso (VO<sub>2</sub> de repouso)<sup>50</sup>. Um estudo recente demonstrou que ratas desnutridas na gestação apresentaram uma menor secreção de insulina e uma maior glicemia de jejum<sup>11</sup>. Estes efeitos foram atenuados nas ratas desnutridas e treinadas consolidando o papel protetor do treinamento físico relativamente aos efeitos da desnutrição e ao aparecimento de diabetes gestacional<sup>11</sup>.

Neste contexto, é plausível considerar a atividade física materna como um importante estímulo ambiental que irá mediar a relação mãe-filho mesmo diante da escassez de nutrientes. Da mesma forma, a atividade física poderia atenuar os efeitos de um excesso de gordura corporal materno ou da diabetes gestacional aumentando a massa magra e o gasto energético<sup>10</sup>. O excesso de ganho de peso durante a gestação pode repercutir em filhos com excesso de peso ao nascer e se tornarem crianças obesas<sup>51</sup>. Mães sobre peso e/ou obesas engajadas em algum tipo de prática esportiva (entre 60 a 150 minutos) apresentaram um menor risco (29%, intervalo de confiança 0,57 – 0,88) de exceder as recomendações para o ganho de peso gestacional quando comparadas aos seus pares inativas<sup>52</sup>.

### **Atividade física na infância e adolescência**

Nas últimas décadas, a população infanto-juvenil em todo o mundo tem adotado um estilo de vida menos ativo (sedentário) e consumido dieta rica em gordura e açúcares o que tem concorrido para um aumento exponencial da prevalência de obesidade e outras enfermidades já na adolescência<sup>4</sup>. Em 2011, uma pesquisa envolvendo 1.433 crianças portuguesas (7 a 9

anos) revelou que 33% apresentavam sobrepeso e 10,7% eram obesas<sup>53</sup>. Na França, de 2.252 crianças (6 – 11 anos) avaliadas, 10% apresentaram sobrepeso e 3,1% apresentaram obesidade segundo os critérios da *International Obesity Task Force* (IOTF)<sup>54</sup>. No Brasil, o número de crianças com sobrepeso e obesidade vem crescendo continuamente de acordo com os dados recentes da Pesquisa de Orçamento Familiar. Grande parte dos estudos referidos na literatura apontam para a inatividade física como principal fator subjacente a este aumento de casos de obesidade e sobrepeso na população pediátrica<sup>3, 53, 55, 56</sup>.

A infância é um período crítico para o desenvolvimento de um estilo de vida ativo, e a prática regular de atividade física ou o engajamento em esportes podem repercutir positivamente ao longo da vida<sup>15</sup>. Estudos longitudinais têm demonstrado que existe uma associação direta entre o comportamento sedentário na adolescência com o estilo de vida adotado na infância<sup>21-23</sup>. Em um estudo prospectivo, o baixo nível de atividade física aos 4 anos de idade foi associado a alta prevalência (58,2%) de sedentarismo avaliado em 4453 adolescentes (10 a 12 anos de idade)<sup>21</sup>. Mais preocupante ainda é que o hábito de praticar atividade física durante a infância e adolescência parecem estar associados ao estilo de vida adotado na fase adulta<sup>57</sup>.

No âmbito da plasticidade fenotípica, um outro fator que vem despertando interesse entre pesquisadores é a relação entre peso ao nascer e atividade física durante a infância<sup>58</sup>. O baixo peso ao nascer (< 2.500 g) parece não ter uma influência direta no nível de atividade física da criança, mas pode indiretamente induzir um estilo de vida inativo através do maior ganho de peso corporal, maior percentual de gordura, mudanças no perfil hormonal (mediadores do crescimento) e diminuição da aptidão física<sup>15, 59</sup>. Um estudo recente verificou que crianças baixo peso ao nascer apresentaram déficits no desempenho em testes de força e de velocidade<sup>59</sup>. Por outro lado, um estudo de intervenção demonstrou que o treinamento físico (3 vezes/semana. 50 a 120 saltos, durante 12 semanas) reverteu os déficits em relação à massa magra, impulsão horizontal (32%), equilíbrio e desempenho motor (14%) quando comparado aos seus pares sedentários [dados não publicados].

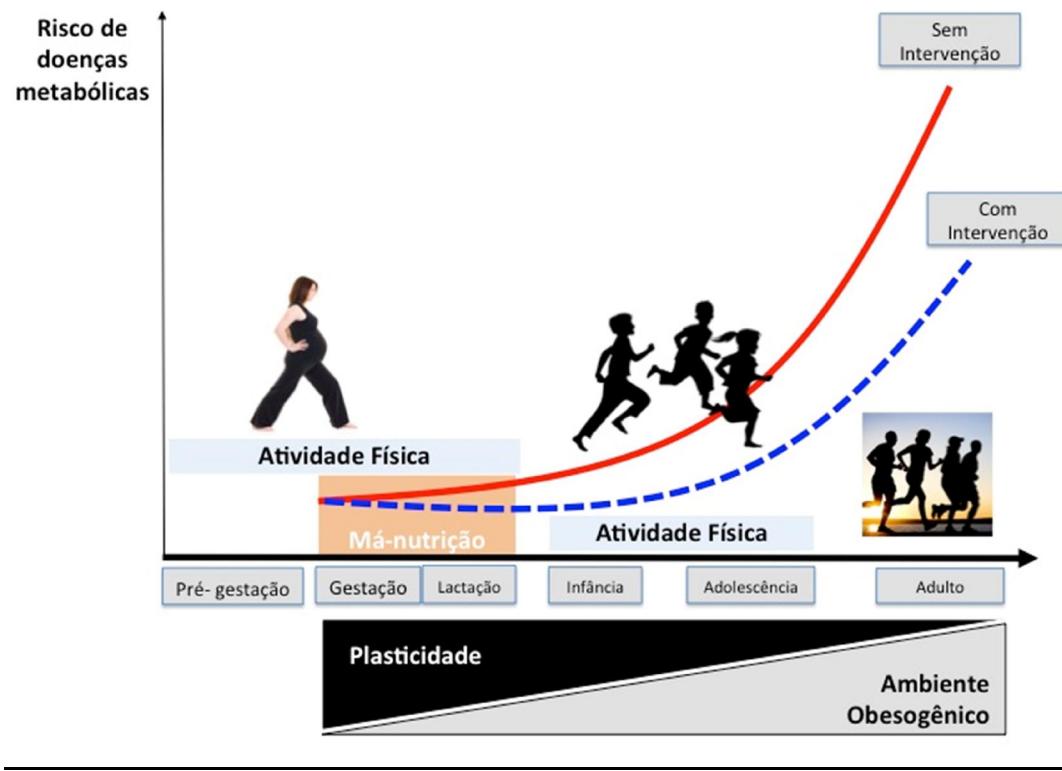
Os efeitos de um estilo de vida ativo já são amplamente reconhecidos na literatura. Não há dúvidas que o músculo esquelético seja um tecido altamente plástico que pode se adaptar às demandas ambientais alterando seu fenótipo e modulando a função de vários outros tecidos<sup>60</sup>. Uma questão que permanece ainda sem respostas refere aos fatores motivacionais para crianças e jovens iniciarem na prática regular de atividade física ou treinamento físico (esporte). Na Suíça, um estudo demonstrou que a prevalência de crianças engajadas em atividades físicas foi baixa e somente 37% participavam de algum tipo de esporte<sup>13</sup>. No Brasil, um estudo avaliou o nível de atividade física habitual de 239 crianças (4 – 11 anos) da cidade de Pelotas<sup>56</sup>. Neste estudo, as crianças passavam cerca de 65% do tempo livre em atividades sedentárias e menos que 20 min/dia em atividades esportivas e mais vigorosas<sup>56</sup>. Vários fatores ambientais podem explicar esta diminuição no nível de atividade física de crianças, tais como: nível socioeconômico, baixo nível de educação materna, ausência de local para prática esportiva nas escolas, pais não-praticantes e mudanças sazonais bruscas<sup>13, 56</sup>.

A promoção da prática de esportes e de uma educação alimentar nas escolas poderia ser um passo importante para a mudança de comportamento em crianças e jovens<sup>19</sup>. Estudos de intervenção têm mostrado que aulas de educação física (ao menos 2 vezes por semana), esportes (ao menos 3 vezes por semana) e tempo livre para atividades de lazer e jogos aumentam a capacidade cognitiva, a aprendizagem, a memória, a aptidão física e o desenvolvimento neuromotor de crianças<sup>21, 22</sup>. Da mesma forma, uma alimentação balanceada está associada a um crescimento saudável, menor acúmulo de tecido adiposo e maior percentual de massa magra<sup>20</sup>. Estudos prospectivos tem demonstrado que o comportamento ativo e hábitos alimentares saudáveis assumido na infância repercutem positivamente durante a adolescência<sup>14, 15, 21, 23</sup>. Por conseguinte, o risco de desenvolver doenças metabólicas, dislipidemias, hipertensão, obesidade e diabetes tipo II será atenuado na vida adulta. A figura 1 apresenta um gráfico representativo do impacto da atividade física e da nutrição nos diferentes ciclos de vida (da alta plasticidade ao ambiente obesogênico).

## **Conclusão**

O rápido desenvolvimento econômico-social gerando desigualdade social levou a coexistência da subnutrição e a obesidade, particularmente em países em desenvolvimento. Da mesma forma, a nova panorâmica econômico-social também tem levado a população a assumir um estilo de vida inativo e hábito sedentário. Este cenário é particularmente importante em períodos iniciais da vida onde o organismo precisa adaptar-se às diferentes demandas ambientais seja de escassez ou de abundância de alimentos. A curto-prazo, as adaptações remodelam o organismo e garantem a sobrevivência e o ciclo reprodutivo. Contudo, a longo-prazo, esta remodelagem pode gerar um custo e o surgimento precoce de doenças metabólicas. A plasticidade fenotípica busca entender como a remodelação orgânica resultante da subnutrição prévia pode impactar no aumento da adiposidade, risco de obesidade e de doenças metabólicas em resposta ao ambiente atual.

Os efeitos da má-nutrição podem ser revertidos pela prática regular de atividade física nas fases críticas de desenvolvimento e nos diferentes ciclos de vida. Estudos prospectivos e de intervenção têm demonstrado que o comportamento ativo e os hábitos alimentares saudáveis assumidos na infância repercutem positivamente durante a adolescência. Assim, a promoção da prática de esportes e de uma educação alimentar nas escolas deveria ser prioridade dentro das políticas públicas de promoção da saúde para a população.



**Figura 1.** Impacto da atividade física e da nutrição nos diferentes ciclos de vida (pré-gestacional, gestacional, lactação, infância, adolescência e vida adulta). Período inicial da vida caracterizado por alta plasticidade e vida adulta pelo ambiente obesogênico. Linhas preta e azul mostram a predisposição ao aparecimento de doenças metabólicas ao longo da vida com ou sem intervenção da prática regular de atividade física.

## **Referências**

1. Xiao X, Zhang ZX, Li WH, Feng K, Sun Q, Cohen HJ, et al. Low birth weight is associated with components of the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2010; 59(9): 1282-1286.
2. Varela-Silva MI, Dickinson F, Wilson H, Azcorra H, Griffiths PL, Bogin B. The nutritional dual-burden in developing countries--how is it assessed and what are the health implications? *Coll Antropol*. 2012; 36(1): 39-45.
3. Stabelini Neto A, Sasaki JE, Mascarenhas LP, Boguszewski MC, Bozza R, Ulbrich AZ, et al. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and metabolic syndrome in adolescents: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2011; 11: 674.
4. Wijnhoven TM, van Raaij JM, Spinelli A, Rito AI, Hovengen R, Kunesova M, et al. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative 2008: weight, height and body mass index in 6-9-year-old children. *Pediatr Obes*. 2013; 8(2): 79-97.
5. West-Eberhard MJ. Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102 Suppl 1: 6543-6549.
6. Barker DJ. The intrauterine environment and adult cardiovascular disease. *Ciba Found Symp*. 1991; 156: 3-10; discussion 10-16.
7. Forsdahl A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med*. 1977; 31(2): 91-95.
8. Martins VJ, Toledo Florencio TM, Grillo LP, do Carmo PFM, Martins PA, Clemente AP, et al. Long-lasting effects of undernutrition. *Int J Environ Res Public Health*. 2011; 8(6): 1817-1846.
9. Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, Fidalgo MA, de Almeida MB, dos Santos JA, Lopes de Souza S, et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *Br J Nutr*. 2012; 107(3): 372-377.
10. Fidalgo M, Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, de Oliveira E, Nogueira-Neto JF, de Moura EG, et al. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal

protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. *Br J Nutr.* 2013; 109(03): 449-456.

11. Leandro CG, Fidalgo M, Bento-Santos A, Falcao-Tebas F, Vasconcelos D, Manhaes-de-Castro R, et al. Maternal Moderate Physical Training during Pregnancy Attenuates the Effects of a Low-Protein Diet on the Impaired Secretion of Insulin in Rats: Potential Role for Compensation of Insulin Resistance and Preventing Gestational Diabetes Mellitus. *J Biomed Biotechnol.* 2012; In Press.
12. Clapp JF, 3rd, Kim H, Burciu B, Schmidt S, Petry K, Lopez B. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186(1): 142-147.
13. Bringolf-Isler B, Grize L, Mader U, Ruch N, Sennhauser FH, Braun-Fahrlander C. Assessment of intensity, prevalence and duration of everyday activities in Swiss school children: a cross-sectional analysis of accelerometer and diary data. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2009; 6: 50.
14. dos Santos FK, Gomes TN, Damasceno A, Prista A, Eisenmann J, Maia JA. Physical activity, fitness and the metabolic syndrome in rural youths from Mozambique. *Ann Hum Biol.* 2013; 40(1): 15-22.
15. Hallal PC, Dumith SC, Ekelund U, Reichert FF, Menezes AM, Victora CG, et al. Infancy and childhood growth and physical activity in adolescence: prospective birth cohort study from Brazil. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2012; 9: 82.
16. Leandro CG, da Silva Ribeiro W, Dos Santos JA, Bento-Santos A, Lima-Coelho CH, Falcao-Tebas F, et al. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. *Eur J Nutr.* 2012; 51(7): 807-815.
17. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res.* 2007; 21(3): 751-756.
18. Moita L, Lustosa MF, Silva AT, Pires-de-Melo IH, de Melo RJ, de Castro RM, et al. Moderate physical training attenuates the effects of perinatal undernutrition on the morphometry of the splenic lymphoid follicles in endotoxemic adult rats. *Neuroimmunomodulation.* 2011; 18(2): 103-110.

19. Mota J, Guerra S, Leandro C, Pinto A, Ribeiro JC, Duarte JA. Association of maturation, sex, and body fat in cardiorespiratory fitness. *American journal of human biology* 2002; 14(6): 707-712.
20. McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PW, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care*. 2004; 27(2): 538-546.
21. Hallal PC, Wells JC, Reichert FF, Anselmi L, Victora CG. Early determinants of physical activity in adolescence: prospective birth cohort study. *Bmj*. 2006; 332(7548): 1002-1007.
22. Mitchell JA, Pate RR, Beets MW, Nader PR. Time spent in sedentary behavior and changes in childhood BMI: a longitudinal study from ages 9 to 15 years. *Int J Obes (Lond)*. 2013; 37(1): 54-60.
23. Danner FW. A national longitudinal study of the association between hours of TV viewing and the trajectory of BMI growth among US children. *J Pediatr Psychol*. 2008; 33(10): 1100-1107.
24. Ginter E, Simko V. Global prevalence and future of diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol*. 2012; 771: 35-41.
25. Wand H, Lote N, Semos I, Siba P. Investigating the spatial variations of high prevalences of severe malnutrition among children in Papua New Guinea: results from geoadditive models. *BMC Res Notes*. 2012; 5: 288.
26. Cohen E, Boetsch G, Palstra FP, Pasquet P. Social valorisation of stoutness as a determinant of obesity in the context of nutritional transition in Cameroon: The Bamileke case. *Soc Sci Med*. 2013; 96: 24-32.
27. Wells JC, Stock JT. Re-examining heritability: genetics, life history and plasticity. *Trends Endocrinol Metab*. 2011; 22(10): 421-428.
28. Popkin BM, Du S. Dynamics of the nutrition transition toward the animal foods sector in China and its implications: a worried perspective. *J Nutr*. 2003; 133(11 Suppl 2): 3898S-3906S.

29. Clemente AP, Santos CD, Martins VJ, Benedito-Silva AA, Albuquerque MP, Sawaya AL. Mild stunting is associated with higher body fat: study of a low-income population. *J Pediatr (Rio J)*. 2011; 87(2): 138-144.

30. Fowden A, Giussani D, Forhead A. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. *Physiology*. 2006; 21: 29 - 37.

31. Ozanne SE, Hales CN. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature*. 2004; 427(6973): 411-412.

32. de Melo JF, Aloulou N, Duval JL, Vigneron P, Bourgoin L, Leandro CG, et al. Effect of a neonatal low-protein diet on the morphology of myotubes in culture and the expression of key proteins that regulate myogenesis in young and adult rats. *Eur J Nutr*. 2011; 50(4): 243-250.

33. dos Santos Oliveira L, de Lima DP, da Silva AA, da Silva MC, de Souza SL, Manhaes-de-Castro R. Early weaning programs rats to have a dietary preference for fat and palatable foods in adulthood. *Behav Processes*. 2011; 86(1): 75-80.

34. Toscano AE, Manhaes-de-Castro R, Canon F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. *Nutrition*. 2008; 24(3): 270-278.

35. Mesquita FF, Gontijo JA, Boer PA. Maternal undernutrition and the offspring kidney: from fetal to adult life. *Braz J Med Biol Res*. 2010; 43(11): 1010-1018.

36. Luzardo R, Silva PA, Einicker-Lamas M, Ortiz-Costa S, do Carmo Mda G, Vieira-Filho LD, et al. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na<sup>+</sup> transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. *PLoS One*. 2011; 6(7): e21232.

37. Costa-Silva JH, Silva PA, Pedi N, Luzardo R, Einicker-Lamas M, Lara LS, et al. Chronic undernutrition alters renal active Na<sup>+</sup> transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? *Eur J Nutr*. 2009; 48(7): 437-445.

38. Thompson NM, Norman AM, Donkin SS, Shankar RR, Vickers MH, Miles JL, et al. Prenatal and postnatal pathways to obesity: different underlying mechanisms, different metabolic outcomes. *Endocrinology*. 2007; 148(5): 2345-2354.

39. Godfrey KM, Lillycrop KA, Burdge GC, Gluckman PD, Hanson MA. Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease. *Pediatr Res.* 2007; 61(5 Pt 2): 5R-10R.

40. Sawaya AL, Roberts S. Stunting and future risk of obesity: principal physiological mechanisms. *Cadernos de saude publica.* 2003; 19 Suppl 1: S21-28.

41. Bateson P, Barker D, Clutton-Brock T, Deb D, D'Udine B, Foley RA, et al. Developmental plasticity and human health. *Nature.* 2004; 430(6998): 419-421.

42. Melzer K, Schutz Y, Boulvain M, Kayser B. Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy outcomes. *Sports Med.* 2010; 40(6): 493-507.

43. ACOG committee opinion. Exercise during pregnancy and the postpartum period. Number 267, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002; 77(1): 79-81.

44. Zavorsky GS, Longo LD. Exercise guidelines in pregnancy: new perspectives. *Sports Med.* 2011; 41(5): 345-360.

45. Leandro CG, Amorim MF, Hirabara SM, Curi R, Castro RMd. Pode a atividade física materna modular a programação fetal induzida pela nutrição? *Revista de Nutrição.* 2009; 22: 559-569.

46. Rao S, Kanade A, Margetts BM, Yajnik CS, Lubree H, Rege S, et al. Maternal activity in relation to birth size in rural India. The Pune Maternal Nutrition Study. *European journal of clinical nutrition.* 2003; 57(4): 531-542.

47. Clapp JF. Effects of Diet and Exercise on Insulin Resistance during Pregnancy. *Metab Syndr Relat Disord.* 2006; 4(2): 84-90.

48. Clapp JF, 3rd. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003; 110 Suppl 1: S80-85.

49. Thomas DM, Clapp JF, Shernce S. A foetal energy balance equation based on maternal exercise and diet. *J R Soc Interface.* 2008; 5(21): 449-455.

50. Amorim MF, dos Santos JA, Hirabara SM, Nascimento E, de Souza SL, de Castro RM, et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Exp Physiol.* 2009; 94(8): 906-913.

51. Davenport MH, Ruchat SM, Giroux I, Sopper MM, Mottola MF. Timing of Excessive Pregnancy-Related Weight Gain and Offspring Adiposity at Birth. *Obstet Gynecol.* 2013; 122(2, PART 1): 255-261.

52. Kraschnewski JL, Chuang CH, Downs DS, Weisman CS, McCamant EL, Baptiste-Roberts K, et al. Association of prenatal physical activity and gestational weight gain: results from the first baby study. *Womens Health Issues.* 2013; 23(4): e233-238.

53. Albuquerque D, Nobrega C, Samouda H, Manco L. Assessment of obesity and abdominal obesity among Portuguese children. *Acta Med Port.* 2012; 25(3): 169-173.

54. Raiah M, Talhi R, Mesli MF. [Overweight and obesity in children aged 6-11 years: prevalence and associated factors in Oran]. *Sante Publique.* 2012; 24(6): 561-571.

55. Bailey DP, Boddy LM, Savory LA, Denton SJ, Kerr CJ. Associations between cardiorespiratory fitness, physical activity and clustered cardiometabolic risk in children and adolescents: the HAPPY study. *Eur J Pediatr.* 2012; 171(9): 1317-1323.

56. Bielemann RM, Cascaes AM, Reichert FF, Domingues MR, Gigante DP. Objectively Measured Physical Activity in Children from a Southern Brazilian City: A Population-Based Study. *J Phys Act Health.* 2012.

57. Bauldry S, Shanahan MJ, Boardman JD, Miech RA, Macmillan R. A life course model of self-rated health through adolescence and young adulthood. *Soc Sci Med.* 2012; 75(7): 1311-1320.

58. Barros JWO, Almeida MBd, Santos MAMd, Santana PRd, Campos FdACeS, Leandro CG. Pode o peso ao nascer influenciar o estado nutricional, os níveis de atividade física e a aptidão física relacionada à saúde de crianças e jovens? *Revista de Nutrição.* 2011; 24(5): 777-784.

59. Moura-Dos-Santos M, Wellington-Barros J, Brito-Almeida M, Manhaes-de-Castro R, Maia J, Gois Leandro C. Permanent deficits in handgrip strength and running speed performance in low birth weight children. *American journal of human biology* 2013; 25(1): 58-62.

60. Wells JC, Hallal PC, Wright A, Singhal A, Victora CG. Fetal, infant and childhood growth: relationships with body composition in Brazilian boys aged 9 years. *Int J Obes (Lond)*. 2005; 29(10): 1192-1198.

## **ANEXO 2- Artigo Original**

**Title:** Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny

**Short-Title:** Maternal voluntary physical activity and offspring development

**Authors:** Gisélia Santana<sup>1</sup>, Renata Beserra<sup>1</sup>, Giselle de Paula da Silva<sup>1</sup>, Jéssica Fragoso<sup>1</sup>, Allan de Oliveira Lira<sup>2</sup>, Elizabeth Nascimento<sup>1</sup>, Raul Manhães de Castro<sup>1</sup>, Carol Góis Leandro<sup>2</sup>.

**Author's Institutions**

<sup>1</sup> Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil

<sup>2</sup>Department of Physical Education and Sports Science, CAV, Federal University of Pernambuco, 55608-680 Recife, PE, Brazil

This study was performed at the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil

**Address of corresponding author:**

**Carol Góis Leandro**

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Universidade Federal de Pernambuco. Centro Acadêmico de Vitória – CAV. Phone: (00 55 81) 21268463. Fax: (00 55 81) 21268473. E-mail: [carolleandro22@gmail.com](mailto:carolleandro22@gmail.com)

## Abstract

The main goals of this study were to classify dams according to the level of voluntary physical activity before breeding, during pregnancy/lactation and to evaluate the effects on growth trajectory and reflex ontogenesis of offspring. Voluntary physical activity was ranked by travelled distance, time and daily estimated calorie burned. Thirty-five female Wistar rats were classified as control (C, n=5) Inactive (I, n=10), active (A, n=8) and very active (VA, n=12). During 30 d before breeding, travelled distance, average speed, time and calorie burned were daily recorded for active and very active groups. Travelled distance was recorded each 2 hours every day of adaptation. Body weight, food intake and fasting glycaemia were measured throughout the experiment. During lactation, litters were evaluated in terms of physical features and reflex ontogeny. VA showed a progressive increase in the travelled distance and time while A dams presented constant values. VA rats showed lower body weight and higher food intake. During pregnancy, both groups performed less than 1 km/d. Pups from A and VA dams showed higher lateral-lateral axis of the skull, longitudinal axis, tail length, and anticipation of the pavilion and auditory canal opening, and erupting incisors. I, A and VA groups showed a delay of righting, cliff aversion and vibrissae placing reflexes. In conclusion, active maternal phenotype is established before breeding allowing mothers to fit ecological and influencing growth trajectory outcomes and reflex ontogeny of the offspring based on matrilineal experience.

**Key-words:** Developmental plasticity, physical activity, gestation, neuro-ontogeny, pups, rats

## 1. Introduction

Maternal stimulus have been used to assess how organisms adapt to different ecological conditions and how they establish investment strategies on offspring during development [1]. A poor maternal nutrient environment early in life is considered a predisposing factor for the development of obesity, hypertension, diabetes type 2 and related diseases in adult offspring [2-4]. Likewise, maternal high-fat milieu induced an higher body weight gain in mothers and their offspring developed larger adipocytes during growth, insulin resistance in muscle and adipocyte, and altered cholesterol profile at adulthood [5, 6]. In rats, a controlled moderate to low-intensity exercise before and during gestation (5 days week<sup>-1</sup>, 60 min day<sup>-1</sup>, 40% - to 70% of VO<sub>2max</sub>) increased the mothers' resting oxygen consumption and altered growth trajectory of offspring [7].

In offspring, differential ontogeny of physiological system, such as faster postnatal growth, childhood obesity or behavioral changes can be predicted by perinatal background (nutrition, drugs, stress and physical activity) [3]. For example, faster postnatal growth is related with undernutrition during pregnancy [8] and childhood obesity is related with maternal obesity and excessive body weight gain during pregnancy [9, 10]. Our previous studies have showed that maternal pharmacological manipulation of the serotonergic system is associated with delayed reflex ontogeny, growth retard, reduction of intraspecific aggression, and deficits in locomotor activity [11-13]. Previous studies using animal models have shown that maternal physical training on a treadmill (5 d/wk, progressive reduction of duration and intensity 50 – 20 min/d, 65 - 30% VO<sub>2max</sub>) resulted in reduced body weight gain, insulin secretion, and high resting oxygen consumption (resting VO<sub>2</sub>) and attenuated the delayed reflex ontogeny induced by undernutrition [14-16].

The biological phenomena underlying those associations is termed phenotypic plasticity and refers to the ability of a phenotype associated with a single genotype to

produce changes in the organism in terms of morphology, physiology and/or behavior in response to any environmental circumstances [17]. In this context, it is plausible to consider maternal voluntary physical activity as a proactive prediction on the part of the mother in order to buffer an eventual injured growth trajectory on the part of the offspring. The term “voluntary physical activity” is used when locomotion is not related with survival or directly motivated by any external factor [18]. In humans, voluntary physical activity affects the energetic cost and can be motivated by psychological (behavioral) or physical (sports and physical fitness) rewarding [19]. In animals, motivation for voluntary exercise can be measured by wheel running, which is rewarding and represent the classic self-motivated behavior [18].

Previous studies have reported the effects of maternal physical activity in rats [20-22]. For example, an enriched housing, including wheel running during pregnancy, transiently enhances memory and hippocampal neurogenesis in the offspring [20, 21]. Voluntary physical activity in the pregnant rat attenuated the loss of mineral bone over the pregnancy/lactation period [22] and improved insulin sensibility in adult offspring [23]. It was also seen that maternal voluntary physical activity provided long-lasting protection from neurodegeneration and brain plasticity [24]. However, less is known about the variation of the effects of physical activity according to the maternal fitness as well as the timing of the exercise during pregnancy [7, 25].

The animal models for voluntary exercise during pregnancy present a methodological limitation since dams are submitted to voluntary physical activity in the beginning of gestation without a representative period of physiological adaptation-induced exercise. Moreover, previous studies did not considered that maternal phenotype for physical exercise can vary according to the load of activity (distance traveled), intensity (average speed), frequency (hours per day or times per week) and

duration (minutes per session) [7]. In addition, there is no information of a comprehensive description of the pattern of voluntary physical activity behaviors that are established before breeding, the consequences during pregnancy and lactation and the effects on earlier time points of ontogenesis of offspring.

In the present study, our hypothesis was built on the theoretical model of phenotypic plasticity that consider the existence of an intra-individual variation which bring out the dual influence of environment and genes during development. Thus, maternal physical activity previously to pregnancy, as an environment responsible for variation in its phenotype over the time, enables the maternal investment on the energy stores during gestation. This strategy of investment will lead changes in the growth patterns and reflex ontogeny of the offspring. Hence, the main goal of this study was to classify dams according to the level of voluntary physical activity before breeding. In addition, we described the physical activity during pregnancy/lactation and the effects on growth trajectory and reflex ontogenesis of offspring.

## **2. Material and Methods**

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee of the Biological Sciences Center (protocol n° n°23076.022745/2011-11), Federal University of Pernambuco, Brazil, and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals [26].

### **2.1 Animals**

Thirty-five 12-wk-old virgin female albino Wistar rats (*Rattus novergicus*) were obtained from the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Brazil and were maintained at a room temperature of  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$  with a controlled light-dark

cycle (dark 08.00 am – 8.00 pm). Standard laboratory chow (Table 1) and water were given *ad libitum* according to the period of life: AIN – 93G (gestation/lactation) and AIN – 93M (maintenance) [27]. Special cages were built with a stainless steel wheel running and dams were allowed to running for a period of four weeks. After the period of adaptation (four weeks), female were placed into a standard cage and mated (1 females for 1 male) for a period of 2 - 4 days. Females had no access to running wheel during mating. The day on which spermatozoa were present in a vaginal smear was designated as the day of conception, day 0 of pregnancy. Pregnant rats were then transferred to their original cages with free access to running wheel throughout pregnancy, and up through postnatal day 15. Dam's body weight and food intake were measured twice a week during four weeks before breeding, pregnancy and nursing. On postnatal day 1, litters were reduced to 8 pups per mother, ensuring only males per litter when possible. Eventually, litters were completed to 8 pups with 2 – 3 females when necessary. Wheels were locked on postnatal 15 to prevent the pups from running and/or being injured. Pups from dams in the pilot study ( $n = 10$ ) were not evaluated. Not all animals successfully performed the exercise required by their group. Two of the twelve-five animals were excluded in the final analysis for failing to have eight or more live offspring (1 control and 1 very active). The litters of eight pups from each mother represent the sample that was evaluated: (control,  $n = 4$ ); inactive ( $n = 6$ ); active ( $n = 6$ ); very active ( $n = 7$ ). The evaluation of physical features, growth, and reflex ontogeny of male pups was daily performed during suckling period. The collection of behavioral data was performed under blind conditions.

## 2.2 Voluntary physical activity measurements

Female Wistar rats (initial body weight  $226 \pm 0.8$  g) were single housed into an acrylic cage (cage size: 34 cm height, 27 cm width and 61 cm length). Stainless steel

wheel (27 cm diameter) were placed into the cage for running physical activity with food and water *ad libitum*. A wireless cyclocomputer (Cataye, model CC-AT200W, Colorado, USA) was attached in the wheel to calculate and display trip information, as average speed, trip distance, trip time, total distance travelled, estimated calorie burned, and the current time. Distance was determined by counting the number of rotations, which was translated into the number of wheel circumferences passed. Speed was calculated from distance against lapsed time period. Wheel circumference and diameter (measured in millimeters) was used to calibrate the cyclocomputer and then to calculate average speed and distance travelled. Calorie burned was estimated by integrating the value calculated from the speed in every second. Measurements of distance traveled, average speed, time and calorie consumption were daily recorded throughout the experiment. During the period of adaptation (four weeks), the habits of female rats were recorded during each day, and running distance in each two hours (06.00 am to 06.00 pm) was registered. Because rodents have nocturnal habits, during the light period (8.00 pm to 8.00 am), distance was recorded in the total period (interval of 12 hours). However, at least two hours at the beginning of light period (6.00 pm to 8.00 pm) and two hours at the finish of light period (6.00 am to 8.00 am) were registered. An initial group of 10 dams was used in a pilot study to establish the median of daily voluntary physical activity for female Wistar rats. Daily distance traveled, time and estimated calorie burned were used to classify rats into different groups according to voluntary physical activity (inactive, active and very active). A control group ( $n = 5$ ) with similar age and body weight was incorporated in the main study and individually housed in a standard dimension cages without running wheel apparatus. The characteristics of experimental groups are shown in table 2.

### **2.3 Mother's body weight and food intake**

Mother's body weight and food consumption were recorded each three days throughout the experiment. Food consumption was determined by the difference between the amount of food provided at the onset of the dark cycle (06.00 hours) and the amount of food remaining 48 h later [28]. Body and food weights were recorded with a Marte Scale (AS-1000) with a 0.01-g accuracy.

#### **2.4 Blood glucose measurements**

Twelve hours fasting glycaemia levels were evaluated in the last day of adaptation and weekly during gestation using blood samples from the tail vein of the rats, using a glucometer (Accu Check Advantage and Accutrend GCT) and the glucose oxidase method. The animals were fasted overnight.

#### **2.5 Physical feature maturation and somatic growth of the offspring**

The features were evaluated daily between 1.00 pm and 3.00 pm by the method of Smart and Dobbing [29] during the suckling period, until maturation. The maturation age of a particular feature was defined as the day it was first observed. The day of the internal auditory conduit opening of both ears and eyes (i.e., when any visible break in the covering membrane of both eyes), and the eruption of upper and lower incisors were recorded. Tail length (distance from tail tip to tail base), length of the laterolateral skull axis (distance between the ear holes) and length of the anteroposterior axis of the head (distance between snout and head-neck articulation) were measured with a digital caliper (Starrett®, Series 799, São Paulo, Brazil) with a 0.01-mm precision. Somatic growth was assessed in terms of body weight and length measurements performed from the first to 21<sup>st</sup> postnatal day between 1.00 pm and 3.00 pm as follows: body weight of the pups was recorded three times a week throughout the experiment with a Marte scale

with 100 mg precision. Body weight gain was calculated as follows: Percentage weight gain = [body weight (g)  $\times$  100/birth weight (g)] – 100. Body weight (in grams) was calculated by the gain of grams per day (g.day<sup>-1</sup>) [30].

## 2.6 Reflex testing

Daily examinations evaluating a spectrum of reflexologic tests (Table 3) [31] as indicators of neurologic development were conducted from the first to the 21<sup>st</sup> postnatal day. Reflex tests were conducted between 11.00 and 13.00 hours. The time of the appearance of each reflex was defined as the first day of its occurrence during a period of three consecutive days.

## 3. Statistical analyses

Measurements of distance traveled, average speed, time, estimated calorie burned body weight and food intake of mothers are presented as means  $\pm$  S.E.M. Each litter of eight pups was considered one sample, and statistical analyses were performed by using the means  $\pm$  S.E.M of the litters into the experimental groups. Statistical differences between the groups (active  $\times$  very active) were determined by Student's t test and two-way repeated measures ANOVA for intra-groups, followed by Bonferroni *post hoc* test when appropriate. For physical features and reflex testing, data were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test for multiple comparisons. Pearson's correlation coefficient was used to correlate body weight gain with number of pups born per mother. Significance was set at  $P < 0.05$ . Data analysis was performed using the statistical program Graphpad Prism 5<sup>®</sup> (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

#### 4. Results

Daily distance traveled, average speed, time and estimated calorie burned of inactive, active and very active female rats were evaluated four weeks before mating, throughout pregnancy and at the first 15 days of nursing (Figure 1A, 1B, 1C and 1D). Very active group showed a progressively increase in running distance, average speed, time and estimated calorie burned as the rats begun the second week of adaptation. During the period of adaptation, active group showed a less variation in the pattern of daily distance travelled (between 2 and 4 km per day) and average speed (between 2 and 3 Km.h<sup>-1</sup> per day), but a progressive increase in the time and estimated calorie burned. Inactive dams showed no changes in their physical activity parameters. As pregnancy advanced, dams presented a reduced running distance per day in both groups and outcomes were similar to inactive group. Maternal daily physical activity was almost nonexistent in all groups during the first 15 days of nursing.

During the adaptation period (four weeks), running distance was recorded in each two hours in order to follow the establishment of the habits (Figure 2A, 2B, 2C and 2D). Indeed, the first days of voluntary physical activity, both groups showed a regular distribution of running speed when the lights off and more physical activity during the period of light on. At second week, both groups increased the running distance during the period of light off and very active rats begin to show a high level of physical activity. At the last two weeks of adaptation, both groups assumed a pattern of physical activity during the period of light off with a similar preference to do exercise between 10.00am to 4.00pm. During pregnancy and lactation, rats did not perform substantial physical activity, although distance travelled has been recorded in each two hours (data not shown).

Body weight, food intake, body weight gain and basal glycaemia were monitored during adaptation, pregnancy and lactation (Figure 3A, 3B, 3C and 3D). During adaptation period, very active group showed a reduced body weight and increased food intake compared with control, inactive and active groups. During gestation, both body weight and food intake were increased in the very active groups. Food intake was evaluated only until the second week of nursing because pups started to eat mother's diet. Although food intake was increased in very active group, there were no differences among groups in terms of body weight. Active group showed a light increased body weight during the last days of lactation compared to other groups. Very active group showed a higher body weight gain during the second week of adaptation period and at the first week of gestation. Data were adjusted for the number of pups born to each dam [control, 12.0 (10–14); inactive, 11.5 (9–14); active, 12.5 (10–16); and very active, 11.0 (9–15); values expressed as median (minimum and maximum)]. Pearson's correlation coefficient between number of pups and gain of body weight of the mother was not significant ( $r^2 = 0.14$ ,  $p=0.611$ ). In addition, basal glycaemia was similar among groups in the last day of adaptation. However, very active dams showed a progressive reduction in the basal glycaemia since the 7<sup>th</sup> day of pregnancy while other groups showed only at 14<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of gestation (Figure 3D).

Pups from dams in each experimental group were evaluated in terms of the appearance of physical features and reflex ontogenesis during the period of lactation. Pup evaluations were calculated by averaging pup characteristics per litter then taking each litter mean. There were no differences in delivery rates among groups (between 21 to 22 days), as well as the number of pups per litter was similar. Birth weight and physical features were not different among groups at the first 10 days of life (Figure 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 4F and 4G). Pups from active dams were lighter than their pairs (Figure

4A). At the last week of lactation, pups from very active dams showed a higher percentage of body weight gain (Figure 4B) and longitudinal axis (Figure 4F) than other groups. The body weight gain (in grams) between the 6<sup>th</sup> – 9<sup>th</sup> days of lactation was lower in pups from both very active and active dams (Figure 4C). Pups from very active dams showed higher values of laterolateral axis of skull and tail length compared to their pairs (Figure 4D and 4G).

The day of onset of ears opening, internal auditory conduct and eruption of lower incisors opening was earlier in pups from very active dams (Figure 5). This group also showed an anticipation of the palmar grasp reflex (Figure 6). On the other hand, righting, cliff drop avoidance and vibrissa placing reflexes were delayed in pups from inactive, active and very active dams when compared to control group. Negative geotaxis was delayed for pups from very active mothers compared to inactive group. Auricular startle was delayed only for pups from active dams (Figure 6).

## 5. Discussion

In the present study, we considered the existence of an individual variation in terms of active maternal phenotype previously to pregnancy, enabling the maternal investment on the energy stores during gestation. Physiologic and behavioral benefits of active life style for non-pregnant are widely recognized in the literature including increased cardiorespiratory fitness, reduced stress and psychiatry diseases, reduced risk for metabolic disease and enhanced quality of life [32]. During pregnancy, irrespective of the specific physiological increased metabolic demands of mother and fetus, maternal physical activity (walk at 3.2 km per hour for 11.2 hours per week, or cycling for 4.7 hours per week) is associated to reduced risk of gestational diabetes mellitus and enhanced cardiorespiratory fitness, reduced body weight gain, reduced skeletal-

muscular fadiga and swelling of the inferior limbs, and gestational hypertension [33, 34]. Herein we showed that maternal physical activity before pregnancy rebounded on growth trajectory and some parameters of reflex ontogenesis of offspring as previously demonstrated in the literature [7, 14, 33].

A representative sample of female rats with the same body weight and age were allowed to exercise freely in running wheel for a period of 30 days before breeding, during gestation and at the first two weeks of lactation. A pilot study was initially performed for the classification of 3 well-defined groups (inactive, active and very active), which is summarized in Table 2. It must be noted that the choice to belong those different groups was somewhat arbitrary, while rats did not received any kind of external rewarding to do exercise. Indeed, running wheel, *per se*, is rewarding for rodents and they are often motivated to run on for a long period of time [35]. On the other hand, the presence of a running wheel into the cage was completely ignored by inactive group throughout the experiments. However, differences in the daily distance traveled, average speed, time and estimated calorie burned were apparent when active and very active female rats were compared before mating. This clear division among groups in response to the same environmental conditions can be considered significant enough for speculations that there are intra-individual differences that can be a clue of genetics determinants. For very active rats, run in the wheel was so agreeable and rewarding that could have induced addiction in rodents by a neurobiological mechanism that include both dopaminergic and endocannabinoid systems as demonstrated by previous studies [18, 36-38].

Voluntary physical activity in rodents has been measured almost exclusively by using only total revolutions (travelled distance) on running wheel and groups are divided in either active or sedentary [20, 21, 23, 24]. Our data showed a tied and direct

description of operational delineations for the components of overall physical activity (running distance, average speed, time, and estimated calorie burned) of each group. Very active rats showed a progressive increase in those parameters of physical activity while active rats were more constant. It is interesting to note that the very active females were lighter and eat more food than their pairs control and inactive. The energetic costs for very active females are higher than active groups, it means that the energy entering via food intake was balanced by the energy expended (physical activity) as confirmed by previous study [35]. Active females remained with their body weight gain and food intake in a very similar pattern than their pairs. Thus, the energetic balance can be transitorily modified by the intensity and duration of exercise especially if it is performed everyday.

Exercise is a common and potent activator of the hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) axis [39]. Both moderate physical training [39, 40] and voluntary physical activity [41] initially causes hyperactivation of the HPA axis, but these changes are completely restored after some weeks of exercise [42]. We showed that rats assumed a routine for physical activity during the hours throughout the day after two weeks of exercise. Also, they preferred to run around 3 or 4 hours after the lights off. Rats begun run in the light period during the first week probable because this is a typical signal of alarm to a new environment mediated by high level of plasma corticosterone [42]. After 10 days, rats begun to standardize their daily physical activity during dark cycle that also can have been attributed to adaptation to a new environment mediated by physiological level of plasma corticosterone [42]. Fasting glucose concentration was not different following 4 weeks of voluntary physical activity among groups and this let us to suggest that the secretion of glucocorticoids reached a physiological range. Indeed, mammalian circadian organization is governed by pacemaker neurons in the brain that

communicate with oscillators in peripheral tissues and glucocorticoids act as strong entraining signals [43]. This detailed description of the rhythmicity of voluntary physical activity will give strong support for experimental models of physical training for rats.

After the confirmation of pregnancy and during lactation, dams from both groups presented a reduced travelled distance per day, and groups performed less than 20 min per day of physical activity at second week of gestation. In contrast, previous studies have reported an increased level of physical activity during pregnancy, with progressive reduction only in the last third of gestation [22-24, 33]. In most previous studies, rats were habituated to their physical activity cages for 2 wk prior to commencing the gestation, which can be a short time to get physical fitness and physiological adaptations [44]. In this study, notwithstanding physical activity was reduced during pregnancy, long-last effects were seen in fasting glucose concentration and body weight gain in very active and active dams when compared to their values before pregnancy. Our data are in accordance with previous studies that referred prior physical training as an environmental strategy that is able to improve cardiorespiratory fitness, muscular strength and metabolic profile in females even if they stop to do exercise during gestation [25, 45].

Active maternal phenotype was able to influence growth trajectory outcomes and reflex ontogeny of offspring. In terms of the investment on growth trajectory during lactation, pups from active and very active mothers showed a higher percentage of body weight gain alongside higher longitudinal axis. In the present study, we did not measured the body composition and we are unable to affirm that higher body weight gain arises from body lean mass. However, previous study has seen that offspring from active mothers present a reduced fat mass, increased birth weight and body lean mass

[46]. Pups from very active mothers showed a reduced gain of body weight (in grams) but a higher tail length in the last three days of lactation. It suggests that maternal active phenotype invested carefully in terms of size proportion of some less metabolically compartments such as tail measurements. We suppose that larger fraction of the body mass of pups from very active dams consisted of structure rather than reserve that could generate a increased metabolic cost for offspring once volume, surface area and length vary according to different power if we consider allometric scaling exponent [47]. Scaling of metabolic rates to body size using allometric law and Kleiber's law are being now performed in our laboratory.

Maternal care during lactation plays an important role in the normal neurodevelopment and brain function and seems to influence neuro-ontogeny and physical features of offspring [12]. In the present study, dams run during less than 20 min/day with a travelled distance not more than 1 km/day. It means that dams did not change their pattern of maternal care (primitive mammals behavior) in favor of their active life style (acquired environmental behavior). Even for very active dams, which were suspected of addiction because of the high load of daily exercise, maternal care for pups were more important. It is interesting to note that even without physical activity, pups from active and very active dams showed differences in some parameters of physical features and reflex ontogeny when compared to pups from control and inactive dams. This nongenetic component of phenotype, which is critical for transducing environmental variation in offspring fitness, is termed "parental effects" [48]. The majority of such effects are maternal, although paternal effects are also documented in those species where males provide parental care [49]. In animals, parental effects on egg size, schedules of growth and reproduction, immunity, sexuality, and behavior have all been documented [48]. In the present study, we provide additional information about

parental effects on early physical features and reflex ontogeny that can be modulated by earlier breeding.

## **6. Conclusion**

In the present study, we demonstrated that active maternal phenotype is established before breeding and rats present intra-individual differences although with similar age, body weight and environmental stimulus (presence of running wheel). The maternal investment on growth trajectory and reflex ontogeny of offspring does not depend on physical activity during gestation/lactation but can be associated with physical activity before breeding. Thus, in the context of different rate of adaptation to active maternal phenotype, plasticity may be considered an important process, allowing mothers to fit ecological demand regardless to their genotype, influencing developmental profile of the offspring based on matrilineal experience.

## **Acknowledgment**

This study was supported by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, GRANT n° 477915/2012-4), Coordination for the Improvement of Higher Level -or Education- Personnel (CAPES, GRANT n° 2317/2008) and State of Pernambuco Science and Technology Support Foundation (FACEPE, GRANT n° APQ-0877-4.09/12).

## **References**

1. Wells JC. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? *J Theor Biol.* 2003;221:143-61.
2. Barker DJ. The intrauterine environment and adult cardiovascular disease. *Ciba Found Symp.* 1991;156:3-10; discussion -6.
3. Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol.* 2002;31:1235-9.

4. Fowden A, Giussani D, Forhead A. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. *Physiology*. 2006;21:29 - 37.
5. Oliveira TW, Leandro CG, de Jesus Deiro TC, dos Santos Perez G, da Franca Silva D, Druzian JI, et al. A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adult rats. *Lipids*. 2011;46:1071-4.
6. Kruse M, Seki Y, Vuguin PM, Quan Du X, Fiallo A, Glenn AS, et al. High-Fat Intake During Pregnancy and Lactation Exacerbates High-Fat Diet-Induced Complications in Male Offspring in Mice. *Endocrinology*. 2013.
7. Amorim MF, dos Santos JA, Hirabara SM, Nascimento E, de Souza SL, de Castro RM, et al. Can physical exercise during gestation attenuate the effects of a maternal perinatal low-protein diet on oxygen consumption in rats? *Exp Physiol*. 2009;94:906-13.
8. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA, Gluckman PD, Hanson MA. The nature of the growth pattern and of the metabolic response to fasting in the rat are dependent upon the dietary protein and folic acid intakes of their pregnant dams and post-weaning fat consumption. *Br J Nutr*. 2008;99:540-9.
9. Chung JG, Taylor RS, Thompson JM, Anderson NH, Dekker GA, Kenny LC, et al. Gestational weight gain and adverse pregnancy outcomes in a nulliparous cohort. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;167:149-53.
10. Gaillard R, Durmus B, Hofman A, Mackenbach JP, Steegers EA, Jaddoe VW. Risk factors and outcomes of maternal obesity and excessive weight gain during pregnancy. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21:1046-55.
11. Deiro TC, Carvalho J, Nascimento E, Medeiros JM, Cajuhi F, Ferraz-Pereira KN, et al. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008;66:736-40.
12. Deiro TC, Manhaes-de-Castro R, Cabral-Filho JE, Barreto-Medeiros JM, Souza SL, Marinho SM, et al. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. *Physiol Behav*. 2006;87:338-44.
13. Manhaes de Castro R, Barreto Medeiros JM, Mendes da Silva C, Ferreira LM, Guedes RC, Cabral Filho JE, et al. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34:121-4.

14. Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, Fidalgo MA, de Almeida MB, dos Santos JA, Lopes de Souza S, et al. Maternal low-protein diet-induced delayed reflex ontogeny is attenuated by moderate physical training during gestation in rats. *Br J Nutr.* 2012;107:372-7.
15. Fidalgo M, Falcao-Tebas F, Bento-Santos A, de Oliveira E, Nogueira-Neto JF, de Moura EG, et al. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. *Br J Nutr.* 2013;109:449-56.
16. Leandro CG, Fidalgo M, Bento-Santos A, Falcao-Tebas F, Vasconcelos D, Manhaes-de-Castro R, et al. Maternal Moderate Physical Training during Pregnancy Attenuates the Effects of a Low-Protein Diet on the Impaired Secretion of Insulin in Rats: Potential Role for Compensation of Insulin Resistance and Preventing Gestational Diabetes Mellitus. *J Biomed Biotechnol.* 2012;In Press.
17. West-Eberhard MJ. Evolution in the light of developmental and cell biology, and vice versa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:8417-9.
18. Garland T, Jr., Schutz H, Chappell MA, Keeney BK, Meek TH, Copes LE, et al. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *J Exp Biol.* 2011;214:206-29.
19. Cumming SP, Standage M, Loney T, Gammon C, Neville H, Sherar LB, et al. The mediating role of physical self-concept on relations between biological maturity status and physical activity in adolescent females. *J Adolesc.* 2011;34:465-73.
20. Bick-Sander A, Steiner B, Wolf SA, Babu H, Kempermann G. Running in pregnancy transiently increases postnatal hippocampal neurogenesis in the offspring. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:3852-7.
21. Kim H, Lee SH, Kim SS, Yoo JH, Kim CJ. The influence of maternal treadmill running during pregnancy on short-term memory and hippocampal cell survival in rat pups. *Int J Dev Neurosci.* 2007;25:243-9.
22. Rosa BV, Blair HT, Vickers MH, Morel PC, Cockrem JF, Firth EC. Voluntary exercise in pregnant rats improves post-lactation maternal bone parameters but does not affect offspring outcomes in early life. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2012;12:199-208.
23. Carter LG, Qi NR, De Cabo R, Pearson KJ. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45:832-40.

24. Herring A, Donath A, Yarmolenko M, Uslar E, Conzen C, Kanakis D, et al. Exercise during pregnancy mitigates Alzheimer-like pathology in mouse offspring. *Faseb J.* 2012;26:117-28.

25. Clapp JF, 3rd, Kim H, Burciu B, Schmidt S, Petry K, Lopez B. Continuing regular exercise during pregnancy: effect of exercise volume on fetoplacental growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186:142-7.

26. Bayne K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist.* 1996;39:199, 208-11.

27. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993;123:1939-51.

28. Lopes de Souza S, Orozco-Solis R, Grit I, Manhaes de Castro R, Bolanos-Jimenez F. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. *Eur J Neurosci.* 2008;27:1400-8.

29. Smart JL, Dobbing J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Res.* 1971;28:85-95.

30. Bayol S, Jones D, Goldspink G, Stickland NC. The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. *Br J Nutr.* 2004;91:331-9.

31. Dobbing J, Hopewell JW. Permanent deficit of neurones in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. *Arch Dis Child.* 1971;46:736-7.

32. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43:1334-59.

33. Melzer K, Schutz Y, Boulvain M, Kayser B. Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy outcomes. *Sports Med.* 2010;40:493-507.

34. Zavorsky GS, Longo LD. Exercise guidelines in pregnancy: new perspectives. *Sports Med.* 2011;41:345-60.

35. Sherwin CM. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Anim Behav*. 1998;56:11-27.

36. Brene S, Bjornebekk A, Aberg E, Mathe AA, Olson L, Werme M. Running is rewarding and antidepressive. *Physiol Behav*. 2007;92:136-40.

37. Werme M, Thoren P, Olson L, Brene S. Running and cocaine both upregulate dynorphin mRNA in medial caudate putamen. *Eur J Neurosci*. 2000;12:2967-74.

38. Keeney BK, Raichlen DA, Meek TH, Wijeratne RS, Middleton KM, Gerdeman GL, et al. Differential response to a selective cannabinoid receptor antagonist (SR141716: rimonabant) in female mice from lines selectively bred for high voluntary wheel-running behaviour. *Behav Pharmacol*. 2008;19:812-20.

39. Leandro CG, de Lima TM, Alba-Loureiro TC, do Nascimento E, Manhaes de Castro R, de Castro CM, et al. Stress-induced downregulation of macrophage phagocytic function is attenuated by exercise training in rats. *Neuroimmunomodulation*. 2007;14:4-7.

40. Leandro CG, Martins de Lima T, Folador A, Alba-Loureiro T, do Nascimento E, Manhaes de Castro R, et al. Physical training attenuates the stress-induced changes in rat T-lymphocyte function. *Neuroimmunomodulation*. 2006;13:105-13.

41. Campbell JE, Rakhshani N, Fediuc S, Bruni S, Riddell MC. Voluntary wheel running initially increases adrenal sensitivity to adrenocorticotropic hormone, which is attenuated with long-term training. *J Appl Physiol*. 2009;106:66-72.

42. Sasse SK, Greenwood BN, Masini CV, Nyhuis TJ, Fleshner M, Day HE, et al. Chronic voluntary wheel running facilitates corticosterone response habituation to repeated audiogenic stress exposure in male rats. *Stress*. 2008;11:425-37.

43. Lu XY, Shieh KR, Kabbaj M, Barsh GS, Akil H, Watson SJ. Diurnal rhythm of agouti-related protein and its relation to corticosterone and food intake. *Endocrinology*. 2002;143:3905-15.

44. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhaes-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J Strength Cond Res*. 2007;21:751-6.

45. Clapp JF, 3rd. The effects of maternal exercise on fetal oxygenation and feto-placental growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110 Suppl 1:S80-5.

46. Melzer K, Schutz Y, Boulvain M, Kayser B. Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy outcomes. *Sports Med*. 2010;40:493-507.

47. Capellini I, Venditti C, Barton RA. Phylogeny and metabolic scaling in mammals. *Ecology*. 2010;91:2783-93.

48. Mousseau TA, Fox CW. The adaptive significance of maternal effects. *Trends Ecol Evol*. 1998;13:403-7.

49. Wells JC. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. *Am J Hum Biol*. 2010;22:1-17.

**LEGEND FOR FIGURES:**

**Figure 1.** Daily travelled distance in km (A), time in minutes (B), average speed in km/h (C) and estimated calorie burned (D) during 30 days of adaptation, gestation and lactation. During adaptation and gestation period, groups were constituted by active ( $n = 8$ ), inactive ( $n = 10$ ) and very active ( $n = 12$ ). During lactation, groups were constituted by active ( $n = 6$ ), inactive ( $n = 6$ ) and very active ( $n = 7$ ). The values are presented as means + S.E.M. \* $P < 0.05$  using two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test.

**Figure 2.** Daily travelled distance (km) recorded in each two hours. First week (A), second week (B), third week (C) and forth week (D).

**Figure 3.** Body weight in grams (A), food intake in grams per day (B) and body weight gain in grams (C) during 30 days of adaptation, gestation and lactation. Fasting glycaemia in mg/dL (D) was measured at last day of adaptation, 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 20<sup>th</sup> day of gestation. During adaptation and gestation period, groups were constituted by control ( $n = 5$ ), inactive ( $n = 10$ ), active ( $n = 8$ ) and very active ( $n = 12$ ). During lactation, groups were constituted by control ( $n = 4$ ), inactive ( $n = 6$ ), active ( $n = 6$ ) and very active ( $n = 7$ ). The values are presented as means + S.E.M. \* $P <$

0.05 vs control using two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test. Intra-groups analysis were used to compare 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 20<sup>th</sup> day of gestation with values at last day of adaptation.  $\delta P < 0.05$  for active, inactive and control groups and  $\gamma P < 0.05$  for very active group using one-way ANOVA and Tukey's *post hoc* test.

**Figure 4.** Body weight in grams (A), body weight gain (%) (B), body weight gain in grams (C), latero-lateral axis of skull in millimeter (D), anteroposterior axis of skull in millimeter (E), longitudinal axis in millimeter (F) and tail length in millimeter (G) during lactation. Litters according to mother's voluntary physical activity constituted groups: control ( $n = 4$ ), inactive ( $n = 6$ ), active ( $n = 6$ ) and very active ( $n = 7$ ). The values are presented as means + S.E.M.  $*P < 0.05$  very active vs control and  $\Psi P < 0.05$  active vs control using two-way ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test.

**Figure 5.** Physical features of litters according to mother's voluntary physical activity constituted groups: control ( $n = 4$ ), inactive ( $n = 6$ ), active ( $n = 6$ ) and very active ( $n = 7$ ). The values are presented as means + S.E.M.  $*P < 0.05$  vs control and  $\phi P < 0.05$  = vs inactive using one-way ANOVA and Tukey's *post hoc* test.

**Figure 6.** Reflex ontogeny of litters according to mother's voluntary physical activity constituted groups: control ( $n = 4$ ), inactive ( $n = 6$ ), active ( $n = 6$ ) and very active ( $n = 7$ ). The values are presented as means + S.E.M.  $*P < 0.05$  vs control and  $\phi P < 0.05$  = vs inactive and  $\Psi P < 0.05$  vs active using one-way ANOVA and Tukey's *post hoc* test.

Table 1. Composition of the diets

Ingredients	AIN-93G* g\100g	AIN-93M* g\100g
Corn Starch (87% carbohydrates), g	39.74	46.47
Casein (protein ≥80%), g	20.00	14.10
Dextrinised starch (92% tetrasaccharides), g	13.20	15.50
Sucrose, g	10.00	10.00
Soya oil, g	7.00	4.00
Cellulose, g	5.00	5.00
Mineral Mixture (AIN-93G-MX)*, g	3.50	3.50
Vitamin Mix (AIN-93-VX)*, g	1.00	1.00
L-Methionine, g	0.30	0.18
Choline bitartrate (41,1% de cholina), g	0.25	0.25
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ), g	0.014	0.008
<b>Macronutrients</b>		
Total Energy (cal/g)	3.56	3.44
Protein	18%	14%
Lipids	18%	11%
Carbohydrates	64%	75%

Table 2: Experimental groups classified according to daily physical activity (distance travelled, estimated calorie burned and time) in the running wheel.

Experimental groups	<i>n</i>	Distance travelled (Km.day <sup>-1</sup> )	Estimated calorie burned (Km.s <sup>-1</sup> .day <sup>-1</sup> )	Time (min.day <sup>-1</sup> )
Control	5	0	0	0
Inactive	10	≤ 1.0	≤ 10.0	≤ 20.0
Active	8	>1.0 ≤ 5.0	>10.0 ≤ 40.0	>20.0 ≤ 120.0
Very Active	12	> 5.0	> 40.0	> 120.0

Table 3. Description of the test reflexes

Reflex	Stimulus	Response
Palmar Grasp	A blunt instrument is stroked in the forepaw and fingers are flexed to grasp the instrument.	Fingers are not flexed to grasp the instrument.
Righting	Rat is placed on its supine position	Turns over to rest in the normal position (prone) with all four feet on the ground, in 10s.
Free-fall righting (acceleration righting)	Rat held by the paws, back downwards, is dropped from 30cm on a cotton wool pad	Turns body in mid-air, to land on all fours. All legs must be free of body on landing.
Negative-Geotaxis	Rat placed with head downwards, on a 45° slope	Turns to face up the slope, at least 130°, in 10s.
Cliff-avoidance	Rat put on edge of bench, with nose and forefeet just over edge	Withdrawal of head and both forefeet from edge, moving away from "cliff", in 10 s
Auditory-startle response	Sudden sound stimulus by percussion with a metallic stick in a metal surface	Body retraction, with a transitory immobility. The stimulus was given twice in each test, with an interval of 1 min.
Vibrissa-placing	Rat held by the tail, head facing an edge of bench, vibrissa just touching vertical surface.	Lifts head and extends forepaws in direction of the bench, making oriented "walking" movements to go far from the edge, in 10 s.

According to Dobbing and Hopewell (1971)

Figure 1

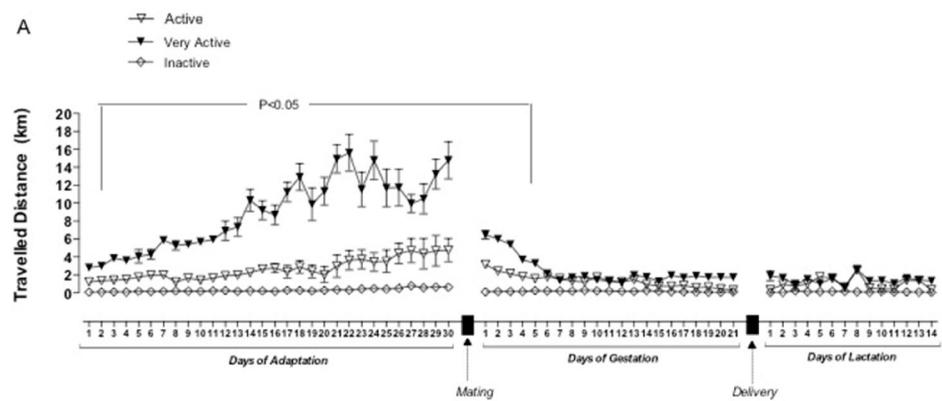


Figure 1

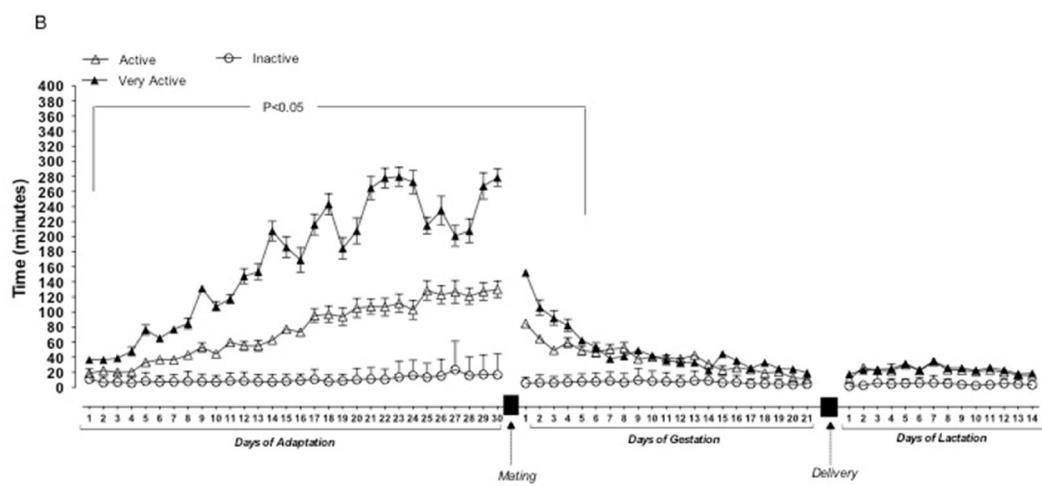


Figure 1

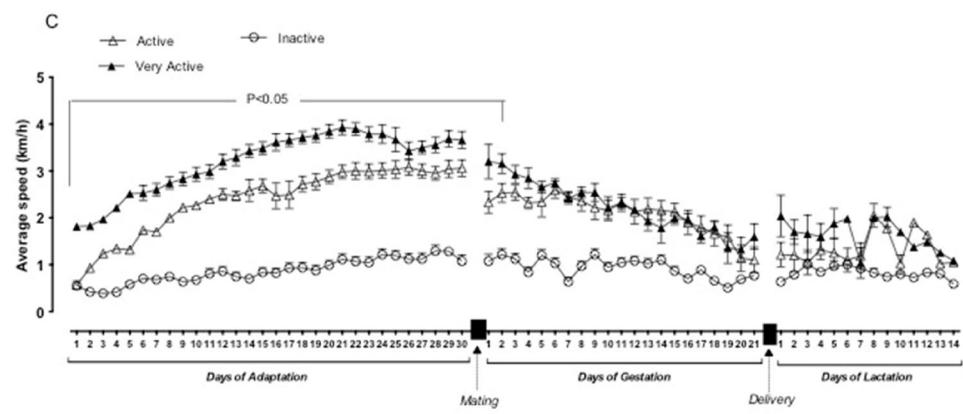


Figure 1

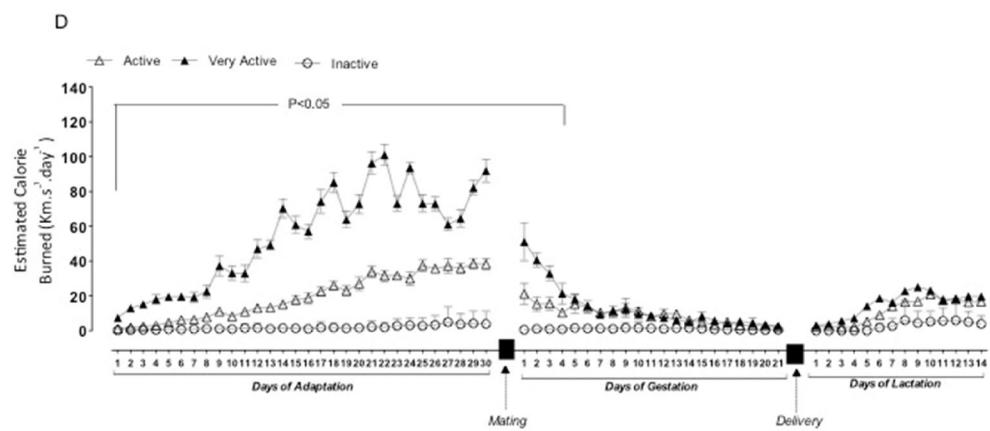


Figure 2

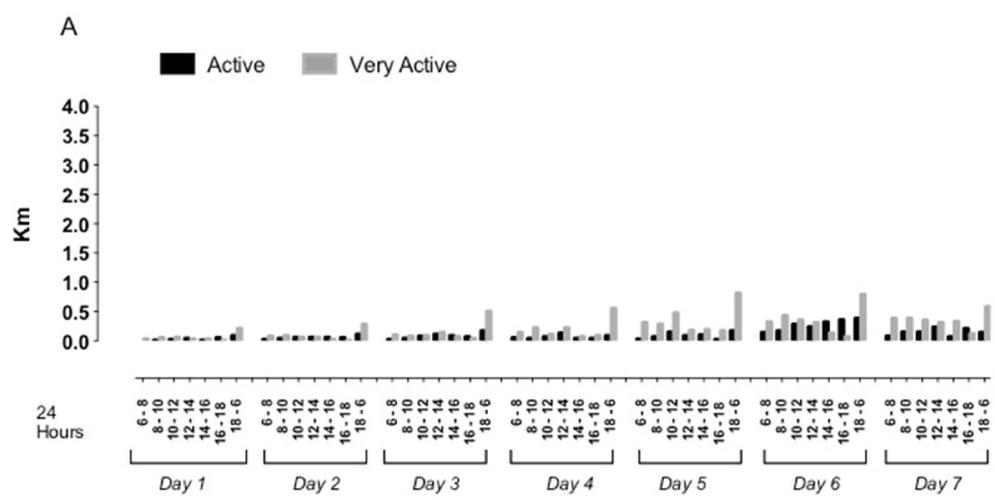


Figure 2

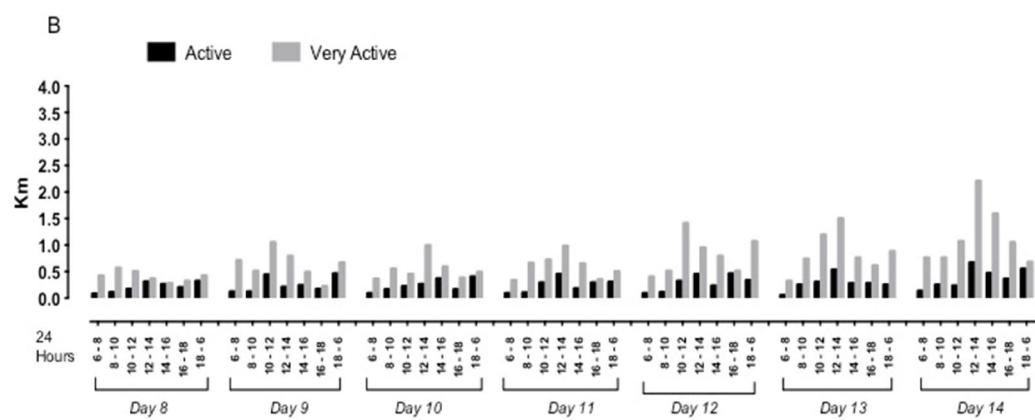


Figure 2

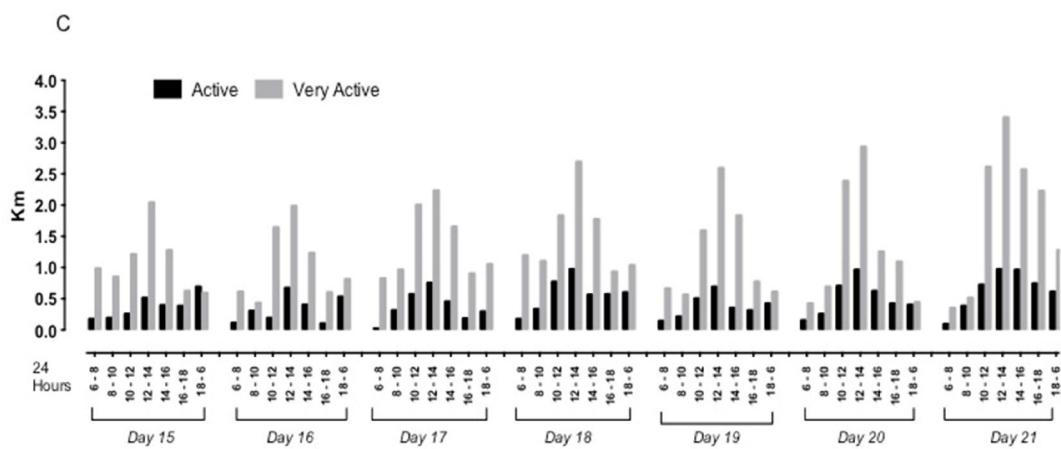


Figure 2

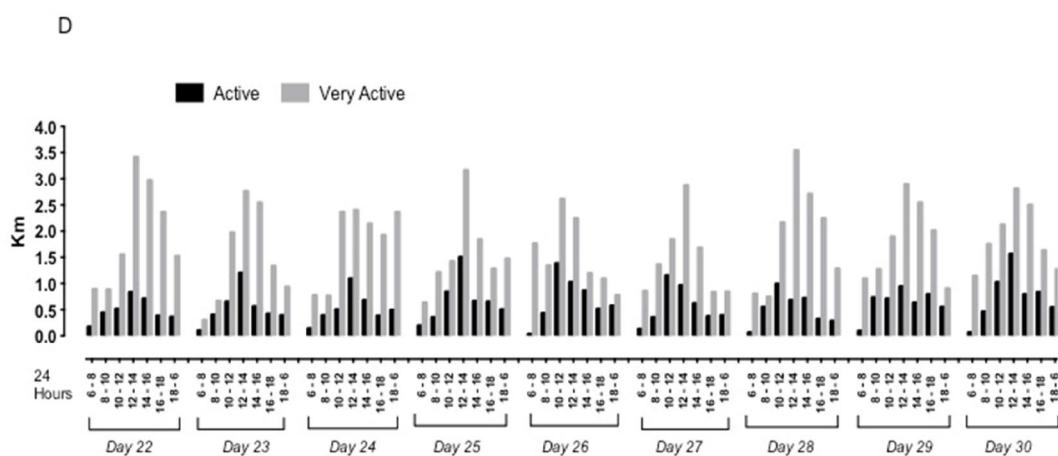


Figure 3

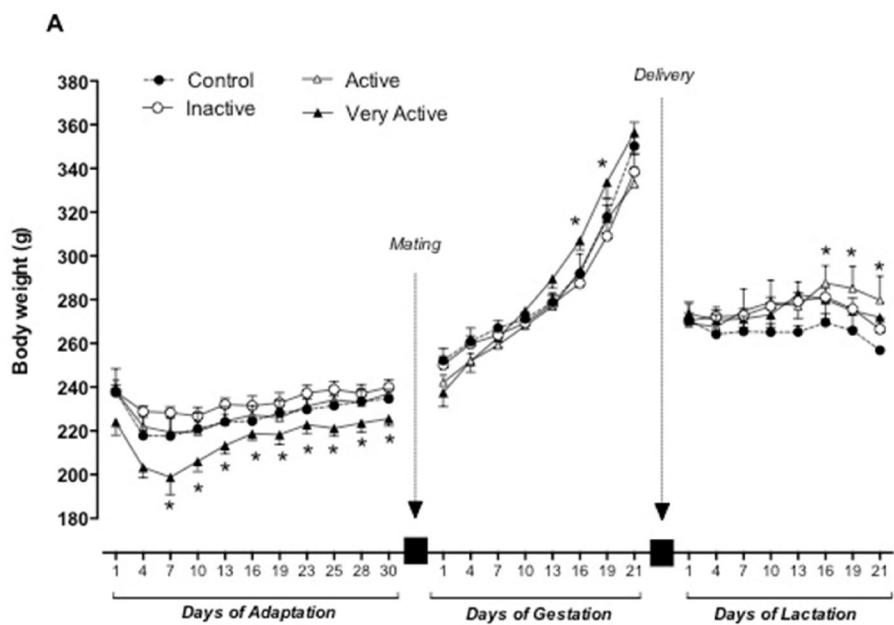


Figure 3

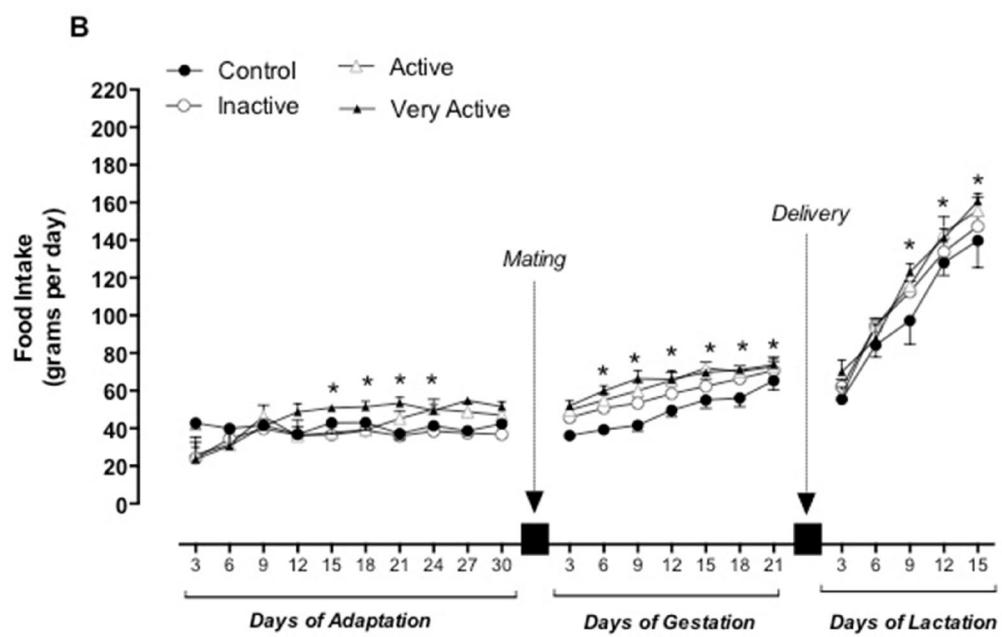


Figure 3

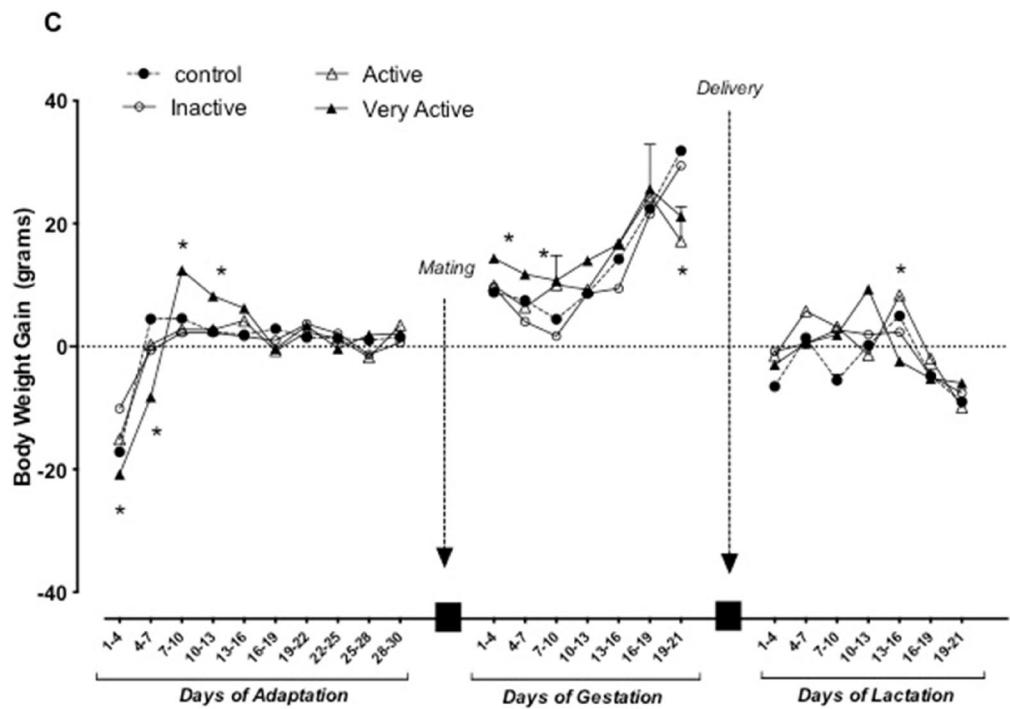


Figure 3

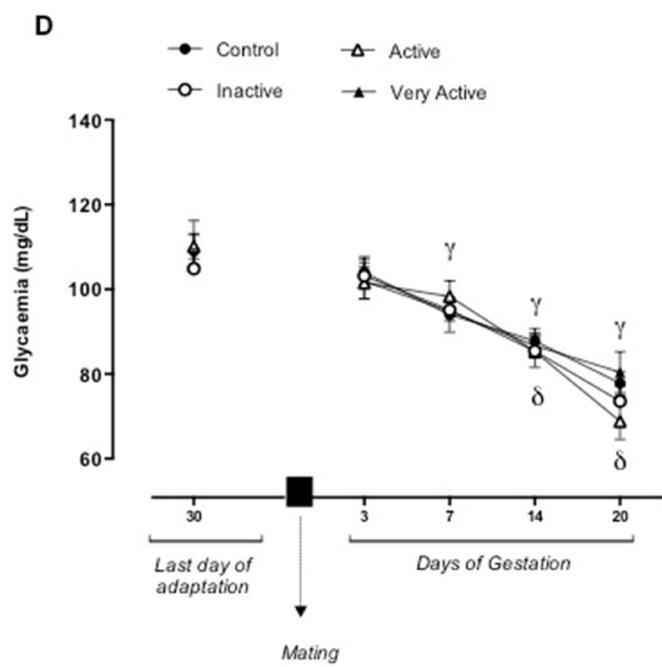


Figure 4

A

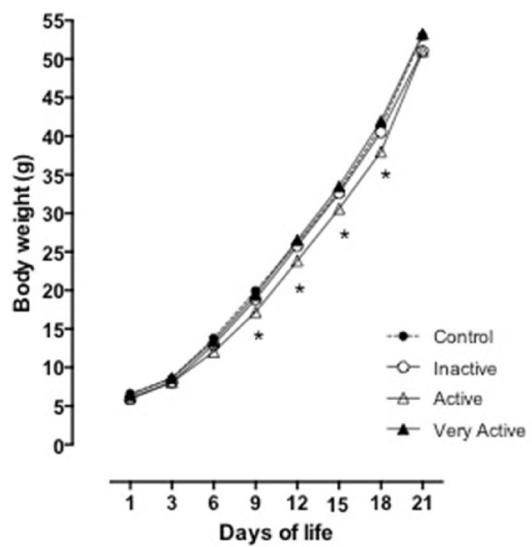


Figure 4

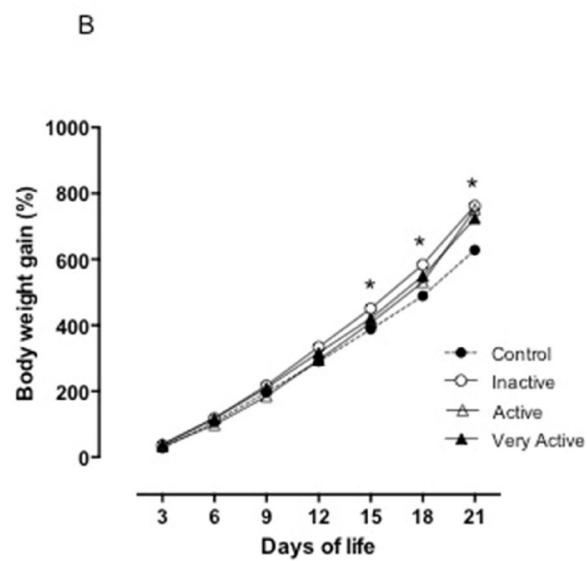


Figure 4

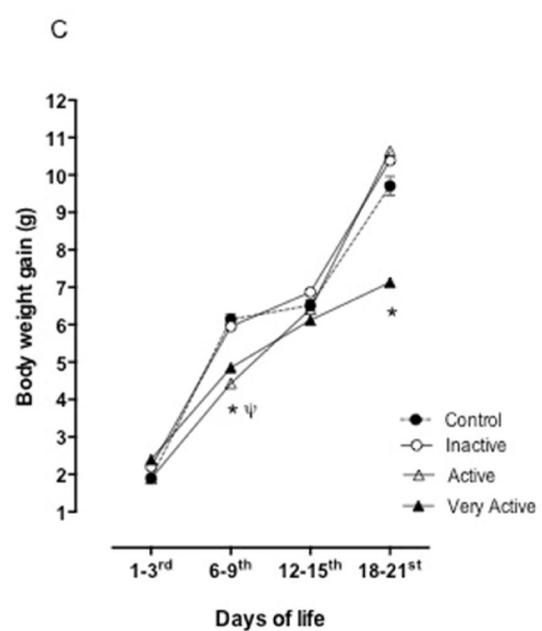


Figure 4

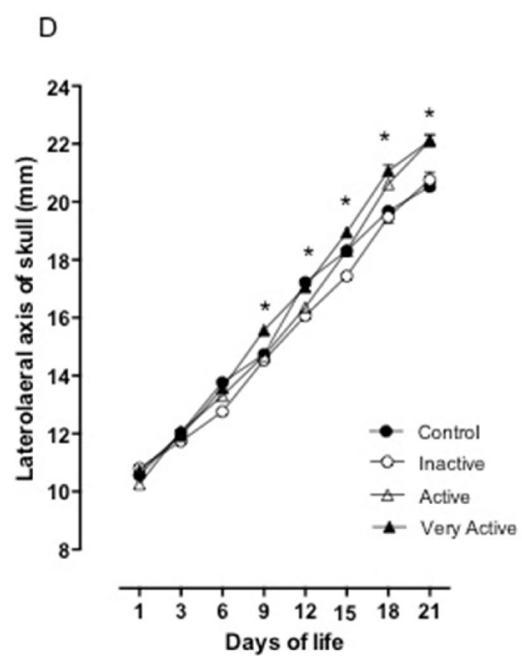


Figure 4

E

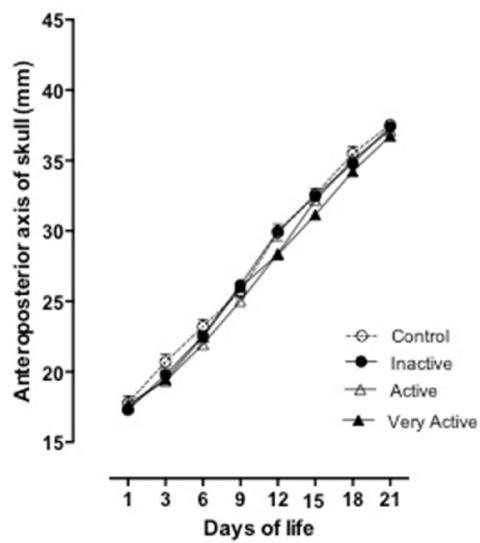


Figure 4

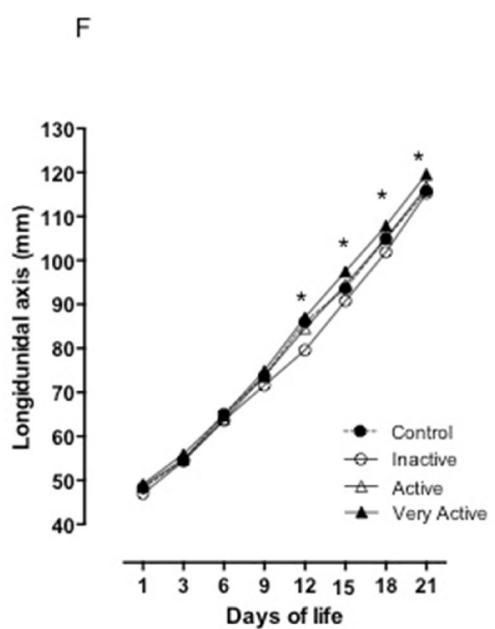




Figure 4

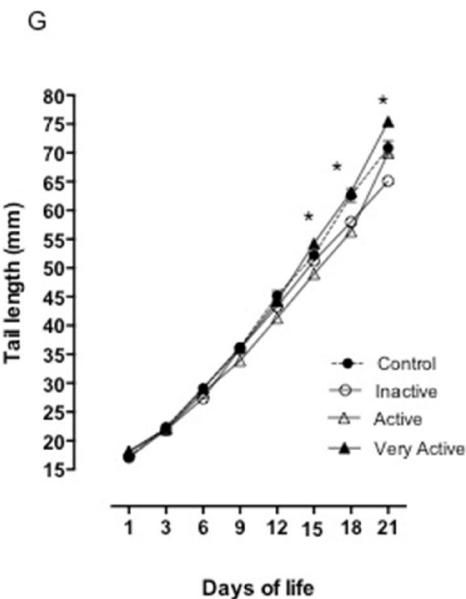


Figure 5

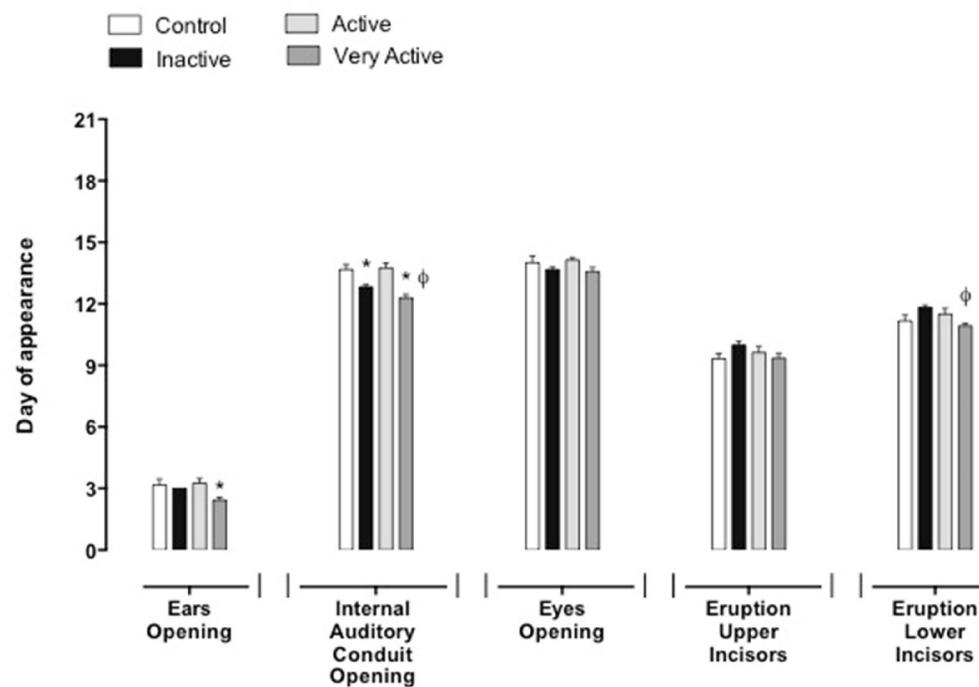
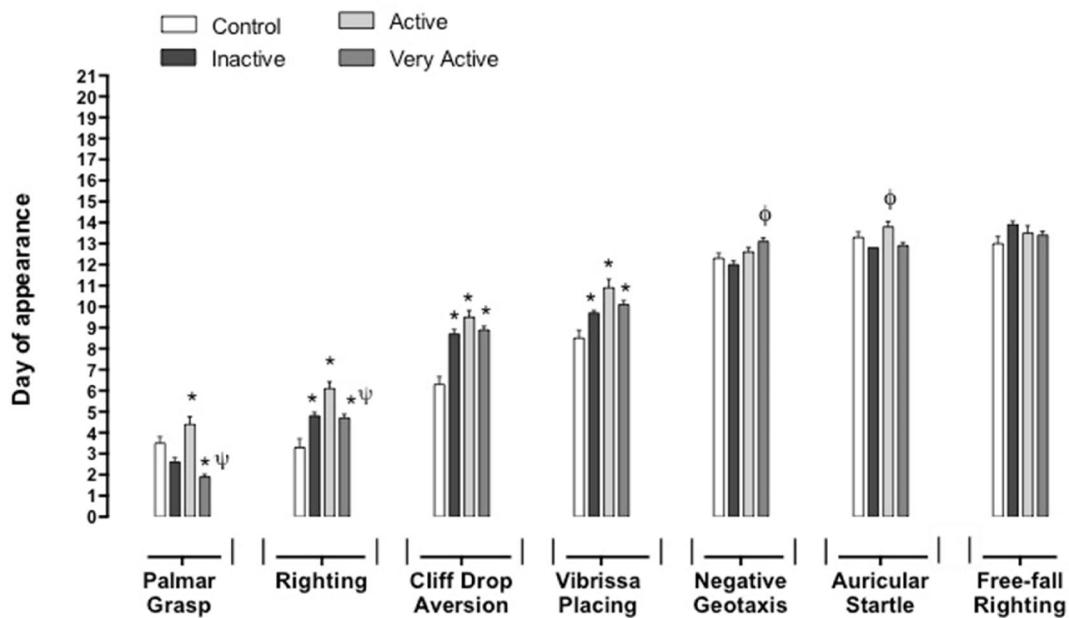


Figure 6



### ANEXO 3- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 0350  
www.ccb.ufpe.br



Recife, 02 de agosto de 2011.

Ofício nº 386/11

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
Para: Prof. Raul Manhaes de Castro  
Departamento de Pós Graduação em Nutrição  
Universidade Federal de Pernambuco  
Processo nº 23076.022745/2011-11

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Desnutrição perinatal e atividade física voluntária: Estudo de parâmetros metabólicos no músculo esquelético, no fígado e no tecido adiposo dos filhotes na vida adulta.”**

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição;  
Animais: Ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: Machos e Fêmeas;  
Idade: 0 a 150 dias;  
Número de animais previsto no protocolo: 88 animais(ratas adultas e seu filhotes).

Atenciosamente,

*Maria Ierêsa Jansen*  
Prof. Maria Ierêsa Jansen  
Presidente do CEUA  
UFPE

CCB: Integrar para desenvolver